

**EFFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA UV-B Y UV-A EN PLANTAS C4:
ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA**

ADRIANA LIZETH TORRES LONDOÑO

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Biólogo**

Director

LUIS FERNANDO RODRIGUEZ HERRERA

Magister en Química

UNIVERSIDAD DEL TOLIMA

FACULTAD DE CIENCIAS

PROGRAMA DE BIOLOGÍA

IBAGUÉ-TOLIMA

2018



UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA

FORMULARIO PARA EVALUACIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

1. TITULO DEL TRABAJO:

EFFECTO DE LA RADIACIÓN UV-A Y UV-B EN PLANTAS C4:
ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA

2. NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES (INCLUIR CODIGO ESTUDIANTIL)

ADRIANA LIZETH TORRES LONDOÑO (070100522011)

3. NOMBRE DEL DIRECTOR (ES) Y CODIRECTOR(ES)

DIRECTOR

Luis Fernando Rodríguez Herrera (Universidad del Tolima)

CO-DIRECTOR(ES)

4. CALIFICACIÓN DEL INFORME ESCRITO (ESCALA DE 1 A 5) EQUIVALENTE AL 60 %

ASPECTOS A CALIFICAR	CALIFICACIÓN NUMERICA	CALIFICACIÓN EN LETRAS
Congruencia entre los objetivos y el desarrollo del trabajo	4.8	Cuatro Ocho
Adecuación de la Metodología a la solución del problema	4.7	Cuatro Siete
Aporte(s) al conocimiento	4.8	Cuatro Ocho
Presentación del documento	4.8	Cuatro Ocho

Nota: Los ítems 1-4 diligenciados, se devuelven con el documento. Los otros se completan en la sustentación

5. SUSTENTACION (ESCALA DE 1 A 5) EQUIVALENTE AL 40%

ASPECTOS A CALIFICAR (Se tienen en cuenta a todos los integrantes)	CALIFICACIÓN NUMERICA	CALIFICACIÓN EN LETRAS
Dominio del Tema	4.8	Cuatro Ocho
Manejo de Recurso Audiovisuales	4.8	Cuatro Ocho
Capacidad de Síntesis	4.8	Cuatro Ocho
Suficiencia para responder preguntas	4.8	Cuatro Ocho

FIRMA DEL JURADO

Luis A. Rodríguez

FECHA

Julio 27 / 18

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, ustedes, quienes me ayudaron a construir los cimientos personales y profesionales, gracias por su acompañamiento, por su apoyo y su paciencia en este proceso. A mi madre quien ha sido mi motor de impulso en este sueño, a mi padre quien ha sido mi bastón.

A mí apreciado profesor Luis Fernando Rodríguez, un ser humano y profesional excepcional, gracias por su apoyo y comprensión, gracias por brindarme aportes invaluable que servirán para toda mi vida.

A la Universidad del Tolima y al grupo de Investigación de química aplicada a procesos ecológicos por las oportunidades que me brindaron para llevar a cabo este proyecto y en general para mi crecimiento profesional.

A mis compañeros de estudio, biólogos colegas, con quienes emprendí este viaje y quienes fueron apoyo estos años.

A mis profesores en general, por compartir con paciencia y profesionalismo sus conocimientos los cuales me permitieron formarme como Bióloga, por sus consejos que inculcaron en mí un espíritu investigativo y me llevaron a tomar esta opción de grado.

A Dios por la vida, las oportunidades y personas que cruzó en mi camino, siempre con un propósito.

“Es justamente la posibilidad de realizar un sueño lo que hace que la vida sea interesante”– Paulo Coelho

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	12
1. ASPECTOS GENERALES	15
1.1 INTRODUCCIÓN	15
1.2 VISIÓN GENERAL DE LA FOTOSÍNTESIS	16
1.2.1 Fase luminosa	17
1.2.1.1 Pigmentos fotosintéticos.	20
1.2.2 Fase oscura.....	22
1.3 FLAVONOIDES.....	23
1.4 PLANTAS C4	25
1.4.1 Fotosíntesis reacción luminosa	26
1.4.2 Fotosíntesis reacción oscura (Fijación de CO ₂)	28
1.4.3 Características de los cloroplastos.....	32
1.4.4 Pigmentos fotosintéticos.....	35
1.4.5 Estado de los estomas	36
1.5 LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA	38
1.6 LA PROBLEMÁTICA EN LA CAPA DE OZONO.....	44
2. EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV-B) SOBRE LA EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DE PLANTAS C4 USANDO COMO MODELO <i>Zea mays</i>.....	49
2.1 INTRODUCCIÓN	49
2.2 MARCO TEÓRICO.....	50
2.2.1 Efecto sobre aspectos ultraestructurales de la planta	50
2.2.2 Efecto sobre aspectos estructurales de la planta	55
2.3 METODOLOGÍA.....	58
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIONES	63
2.4.1 Aspectos Ultraestructurales:	63
2.4.2 Aspectos estructurales:	77

2.5 CONCLUSIONES.....	92
 3. EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA UV-A SOBRE PLANTAS C4 USANDO COMO MODELO <i>Zea mays</i>.....	 94
3.1 INTRODUCCIÓN	94
3.2 MARCO TEÓRICO.....	96
3.2.1 Efecto sobre aspectos ultraestructurales de la planta	96
3.2.2 Efecto sobre aspectos estructurales de la planta	99
3.3 METODOLOGÍA.....	102
3.4 RESULTADOS Y DISCUSIONES	103
3.4.1 Aspectos Ultraestructurales:	104
3.4.2 Aspectos estructurales.	114
3.5 CONCLUSIONES.....	127
 CONCLUSIONES GENERALES	 130
 REFERENCIAS	 133

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Unidad Fotosintética.....	17
Figura 2. Tipos de fotofosforilaciones presentes en plantas.....	19
Figura 3. Estructura química de algunos pigmentos fotosintéticos.....	21
Figura 4. Ciclo de Calvin.	23
Figura 5. Estructura básica, características estructurales y tipos de flavonoides.	24
Figura 6. Esquema básico de una hoja de planta C4.....	26
Figura 7. Bioquímica del carbono de plantas C4 tipo NADP-ME.....	32
Figura 8. Distribución de los complejos proteicos en los tilacoides.	33
Figura 9. Micrografías electrónicas de la anatomía Kranz de una planta C4 (<i>Zea Mays</i>).	34
Figura 10. Espectro de radiación solar.	38
Figura 11. Promedio de distribución del índice ultravioleta máximo anual en Colombia.	40
Figura 12. Distribución promedio de la columna total de ozono en el año 2014 sobre el territorio colombiano (Unidades Dobson UD).....	42
Figura 13. Reacciones químicas que se dan a nivel de la estratósfera entre el ozono y moléculas halógenas, en este caso el cloro, responsables del deterioro de la capa de ozono.	47
Figura 14. Consumo mundial de los principales CFC y HCFC en los años 90s y el HFC como sustituto.	48
Figura 15. Cultivo de plantas de maíz en sus respectivas macetas.	59
Figura 16. Imágenes de cloroplastos aislados de plantas de maíz sometidas a radiación ultravioleta B y sus controles.	64
Figura 17. Efecto de la radiación UV-B sobre la concentración de cloroplastos.	67
Figura 18. Efecto de la radiación UV-B sobre la capacidad de reducción del aceptor final en la cadena transportadora de electrones en hojas de plantas de maíz.....	69
Figura 19. Espectro de absorción de extractos etanólicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y su respectivo testigo	71

Figura 20. Espectros de absorción de extractos cetónicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y su respectivo testigo.	73
Figura 21. Relación entre las absorbancias de pigmentos fotosintéticos obtenidas para plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y sus respectivos controles a 431 nm (absorbancia máxima).....	74
Figura 22. Efecto de la UV-B sobre la concentración de pigmentos fotosintéticos.....	75
Figura 23. Efecto de la UV-B sobre la concentración de clorofila a y b en plantas de maíz.	76
Figura 24. Plantas testigo Vs plantas bajo influencia de radiación UV-B	78
Figura 25. Longitud total de plantas irradiadas con UV-B (UV-B) y sus respectivos controles (TES).	80
Figura 26. Microfotografías de hojas de maíz sometidas a radiación UV-B y sus respectivos testigos, mostrando la disposición y tamaño de los estomas.....	82
Figura 27. Relación largo/ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-B y su testigo.....	84
Figura 28. Largo y ancho de estomas de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos.....	85
Figura 29. Biomasa de plantas de maíz sometidas a radiación ultravioleta B (UV-B) y sus respectivos testigos.	87
Figura 30. Relación del peso seco entre plantas irradiadas con UV-B y sus respectivos controles (TES).	88
Figura 31. Fotografía de raíz de plantas de maíz tratadas con radiación UV-B y su respectivos testigo.....	89
Figura 32. Efecto de la UV-B sobre la longitud de la raíz	90
Figura 33. Efecto de la UV-B sobre la biomasa de plantas de maíz.	91
Figura 34. Transmitancia de la radiación solar a través de la hoja.....	97
Figura 35. Siembra de semillas de <i>Zea Mays</i> y tratamiento UV (A y B) empleado. ..	102
Figura 36. Metodología empleada para determinar los parámetros estructurales (a) y ultraestructurales (b).	103
Figura 37. Cloroplastos aislados de plantas de maíz bajo radiación ultravioleta A y sus controles.....	104

Figura 38. Efecto de la UV-A sobre la concentración de cloroplastos.....	106
Figura 39. Efecto de la radiación UV-A sobre la capacidad de reducción del aceptor final en la cadena transportadora de electrones en hojas de plantas de maíz.....	108
Figura 40. Espectro de absorción de extractos etanólicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-A y su respectivo testigo	110
Figura 41. Espectro de absorción de extractos cetónicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-A y su respectivo testigo.....	112
Figura 42. Efecto de la UV-A sobre la concentración de pigmentos fotosintéticos....	114
Figura 43. Fotografía de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-A.	115
Figura 44. Longitud total (cm) de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (Testigo) con respecto a plantas irradiadas con UV-A.	117
Figura 45. Microfotografías de hojas de maíz sometidas a radiación UV-A y sus respectivos testigos, mostrando la disposición y tamaño de los estomas.....	119
Figura 46. Largo y ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A y su testigo	121
Figura 47. Relación largo/ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A y su testigo.....	121
Figura 48. Efecto de la UV-A sobre la biomasa de plantas C4.....	123
Figura 49. Fotografía de raíz de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A (Derecha) y sus respectivos testigo (Izquierda).	125
Figura 50. Longitud de la raíz de plantas de maíz sometidas a radiación UV-A y su respectivo testigo.	126
Figura 51. Biomasa de la raíz de plantas de maíz sometidas a radiación UV-A y su respectivo testigo.	127

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores de absorción para las bandas II y I de algunos tipos de flavonoides.	25
Tabla 2. Tipos de metabolismo de fijación del carbono en plantas C4.	31
Tabla 3. Algunos compuestos halógenos presentes en la atmósfera.	46
Tabla 4. Cambios ocurridos a nivel de los pigmentos fotosintéticos causados por la radiación ultravioleta B (UV-B) en algunas plantas C4.....	53
Tabla 5. Reacción de Hill.	61
Tabla 6. Índice estomático de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos.....	86
Tabla 7. Índice estomático de plantas de maíz irradiadas con UV-A y sus respectivos testigos.....	122

RESUMEN

El paulatino deterioro de la capa de ozono por diferentes sustancias químicas ha incrementado los niveles de radiación ultravioleta UV-A y UV-B que ingresan al planeta, lo cual afecta los procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de muchas especies de plantas. Para evaluar los efectos de dicha radiación en plantas C4 se usó como modelo *Zea mays L*, y se realizaron análisis estructurales: concentración de cloroplastos, biomasa, longitud de la planta y condición estomática; y ultraestructurales: rendimiento de la cadena transportadora de electrones (CTe⁻), absorción de energía y concentración de pigmentos fotosintéticos. Las plantas se expusieron de manera independiente a UV-A y UV-B por períodos de 6 horas diarias durante 20 días.

En ambos casos, se evidencia un incremento en la síntesis de flavonoides, como mecanismo de fitoprotección, reflejada indirectamente en la respuesta del rendimiento de la CTe⁻ y la concentración de pigmentos, que en UV-A presenta una mejora. Los aspectos estructurales, se vieron afectados la longitud y biomasa, sin que la densidad estomática presentara cambios. Pese a la rapidez en el desarrollo de mecanismos de protección de la planta, la exposición a UV-A y UV-B genera cambios negativos a nivel estructural y ultraestructural, esto es de transcendencia si se considera que cualquier cambio fisiológico o metabólico, acarreará la alteración de ciclos biogeoquímicos en el planeta, teniendo en cuenta que de los productos fotosintéticos dependen la mayor parte de los seres vivos para llevar a cabo sus funciones fisiológicas, afectándose por tanto el desarrollo y equilibrio de los ecosistemas.

Palabras clave: Fotosíntesis, Radiación UV-A, Radiación UV-B, Cadena transportadora de electrones, fitoprotección.

ABSTRACT

The gradual deterioration of the ozone layer by different chemical substances has increased the UV-A and UV-B levels of ultraviolet radiation that enter the planet, which affects the physiological, biochemical and molecular processes of many plant species. To evaluate the effects of this radiation on C4 plants, *Zea mays L* was used as a model, and structural analyzes were carried out: chloroplast concentration, biomass, plant length and stomatal condition; and ultrastructural: performance of the electron transport chain (CTe-), energy absorption and concentration of photosynthetic pigments. The plants were exposed independently to UV-A and UV-B for periods of 6 hours daily for 20 days.

In both cases, an increase in the synthesis of flavonoids is demonstrated, as a mechanism of phytoprotection, reflected indirectly in the response of the performance of the CTe- and the concentration of pigments, which in UV-A presents an improvement. The structural aspects affected the length and biomass, without stomatal density changes. Despite the rapid development of plant protection mechanisms, exposure to UV-A and UV-B generates negative structural and ultrastructural changes, this is of great importance if we consider that any physiological or metabolic change will lead to alteration of biogeochemical cycles in the planet, taking into account that most of the living beings depend on photosynthetic products to carry out their physiological functions, thus affecting the development and balance of ecosystems.

Keywords: Photosynthesis, UV-A Radiation, UV-B Radiation, electron transport chain, Phytoprotection.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de las tecnologías ha llevado a un crecimiento acelerado y no planificado de las industrias que no ha permitido prever los impactos ambientales del presente siglo, esto ha generado un panorama de crisis ambiental al verse alterada la relación del hombre con la naturaleza. Como resultado de esto se presentan fenómenos como la contaminación de la estratósfera por sustancias que agotan la capa de ozono (SAO). El ozono estratosférico protege a los seres vivos al absorber la radiación ultravioleta UV-A, UV-B y UV-C, las cuales según la Sociedad Americana de Cáncer (2016) causa en los seres humanos riesgo de cáncer de piel, cataratas y la supresión del sistema inmune. Una exposición excesiva a los rayos UV-B puede dañar también la vida vegetal, los organismos unicelulares y los ecosistemas acuáticos (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente PNUMA, 2012).

Pese a que en los últimos años algunos países han hecho esfuerzos por minimizar el uso de SAO, han sido notorios los daños causados por un mayor ingreso de radiación ultravioleta al planeta debido al agotamiento de la capa de ozono, este daño sigue actualmente ya que las concentraciones de estas sustancias químicas siguen siendo altas por su estabilidad y largo ciclo de vida en la atmósfera. La organización meteorológica mundial (OMM), informó que los agujeros más grandes en la atmósfera se presentaron en el año 2000, 2006 y 2015 con extensiones de aproximadamente 27 millones de Km², el agujero del año 2007 presentó un área de 24.7 millones de Km², 30% menos que en el 2006, pero para el año 2015 el agujero fue de 28.2 millones de Km², con una pérdida total de ozono de 32.5 millones de toneladas. Una de las SAO más conocidas son los hidroclorofluorocarbonos, que al llegar a la estratósfera reaccionan formando óxidos (Cl₂O₃, F₂O, Br₂O₃) los cuales destruyen la molécula de ozono (O₃). El resultado de esta reacción para el caso del cloro (Cl₂), es la destrucción de 100.000 moléculas de ozono por cada átomo de cloro (Sivasakthivel & Reddy, 2011) teniendo dicha alteración serias connotaciones, como permitir que la radiación solar de alta energía llegue a la superficie del planeta. Pese a que la radiación solar es la fuente vital

de energía para la biósfera (al ser captada y transformada por las plantas en el proceso fotosintético para producir ATP y biomasa); un aumento del flujo solar que atraviesa la atmósfera provoca alteraciones fisiológicas en plantas aumentando la susceptibilidad a enfermedades al afectar organelos y membranas (Correia, Areal, Torres-Pereira & Torres-Pereira, 1999), y al aparato fotosintético (Barbato, Bergo, Szabó, Dalla & Giorgio, 2000; Bergo et al., 2003; Kataria, Guruprasad, Ahuja & Singh, 2013; Tardon, 2011) disminuyendo la producción de biomasa (Andrade et al., 2006), de igual manera es influyente en el surgimiento de enfermedades mutagénicas en humanos (debido a que los ácidos nucleicos y proteínas son cromóforos celulares por excelencia González-Púmariega, Tamayo & Sánchez-Lamar (2009)) y además también es parte causal del efecto invernadero.

Desde la firma del *Protocolo de Montreal*, se han tomado medidas de mitigación frente al deterioro de la capa de ozono, como el desuso de sustancias halocarbonadas que, según Solomon et al. (2016) han permitido contraer la capa de ozono de 4.5 ± 4.1 millones de km^2 del 2000 al 2015, indicando un proceso de recuperación de la misma, sin embargo algunas proyecciones indican que la cantidad de radiación UV-B alcanzará mayores niveles en la superficie del planeta en los próximos años, debido a que la capa de ozono está sujeta a fluctuaciones por condiciones ambientales variables.

De este modo y considerando algunas investigaciones preliminares, se prevé que mayores radiaciones de UV (A, B y C) podría tener efectos nocivos en aspectos estructurales de las plantas, como altura, biomasa, área foliar, etc (Kataria & Guruprasad, 2012) y ultraestructurales como la eficiencia del aparato receptor de luz, concentración de pigmentos fotosintéticos, producción de oxígeno, secuestro de CO_2 , etc. La mayoría de las investigaciones en este campo enfatizan en el impacto de la radiación UV a nivel productivo, sin tener en cuenta que de la producción de oxígeno y biomasa dependen los seres vivos, además, que las plantas son las captadoras de CO_2 por excelencia y que por otra parte el O_2 es fundamental para la vida y para efectuar muchos de los ciclos biogeoquímicos esenciales en nuestro planeta, es decir, ignoran las connotaciones ecológicas y ambientales que esto conlleva.

El objetivo de la presente investigación es evaluar la respuesta de plantas C4 (empleando como modelo plantas de *Zea mays*) al exponerlas a la radiación UV-A y UV-B, mediante la estimación de parámetros bioquímicos y fisiológicos como: análisis estructurales (Acumulación de biomasa, longitud de la planta, estado de los estomas) y ultraestructurales (Absorción de energía de pigmentos fotosintéticos así como su producción, rendimiento de la cadena transportadora de electrones); y así poder estimar las consecuencias a nivel ecológico si la radiación ultravioleta que ingresa al planeta siguiera en aumento, tras el deterioro de la capa de ozono.

De acuerdo a esto, el presente documento se estructurará a manera de capítulos en los que se abordarán los diferentes ensayos para alcanzar los objetivos propuestos. El primer capítulo presenta una revisión de los aspectos generales que permiten entender el comportamiento fisiológico de la planta, el fenómeno del deterioro de la capa de ozono y la problemática que se presenta por el ingreso de mayores niveles de energía solar al planeta; y en los capítulos 2 y 3 se presenta el efecto de la radiación UV-A y UV-B respectivamente sobre los aspectos estructurales y ultraestructurales ya mencionados, en plantas de maíz.

1. ASPECTOS GENERALES

1.1 INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es sin lugar a dudas uno de los procesos fisiológicos más importantes que se lleva a cabo en la naturaleza, con una influencia muy marcada sobre la atmósfera, el clima y la supervivencia de los seres vivos. Se trata de un proceso mediante el cual plantas, algunas algas, bacterias fotosintéticas y algunos protistas utilizan energía lumínica para sintetizar compuestos orgánicos, siendo estos los responsables de convertir el CO_2 atmosférico en carbohidratos y estos a su vez en la energía en forma de ATP necesarios para la vida.

Existen diferentes tipos de metabolismos fotosintéticos: C3, C4 y CAM, los cuales se han desarrollado dependiendo de las condiciones y cambios ambientales que han surgido a lo largo de la evolución del planeta tierra, cambios relacionados principalmente con variaciones en las concentraciones de CO_2 atmosférico. Las plantas C3 (Algas verdes, cianobacterias, algunas plantas vasculares) fijan el CO_2 a la ribulosa-1,5-bisfosfato, mediante la enzima RuBisCO, originando un compuesto intermedio inestable de seis carbonos que se degrada a 2 moléculas de 3-fosfoglicerato; por su parte, en las plantas C4 (Maíz, caña de azúcar, croton) la molécula aceptora de CO_2 es el ácido fosfoenolpirúvico (PEP), y la enzima catalizadora es la fosfoenolpiruvato carboxilasa, originándose una molécula de 4 carbonos (Ácido oxalacético). Esta característica de las C4 le genera un gasto mayor de ATP por cada molécula de CO_2 fijada, sin embargo este metabolismo representa una ventaja, ya que a diferencia de las C3, la enzima catalizadora en las C4 no es afectada por altas concentraciones de CO_2 , evitando la transpiración. Esta diferencia metabólica se logró como un mecanismo de adaptación de las plantas C4 a los ambientes cálidos y secos, ya que en plantas C3 se pierden hasta 100 moléculas de agua por cada molécula de CO_2 (Pérez-Urria, 2009), aunque otros autores como Taiz y Zeiger (2006) aseguran que pueden perder hasta 500 moléculas de agua por CO_2 fijada, reduciendo este valor a la mitad en las C4; de esta manera, tanto

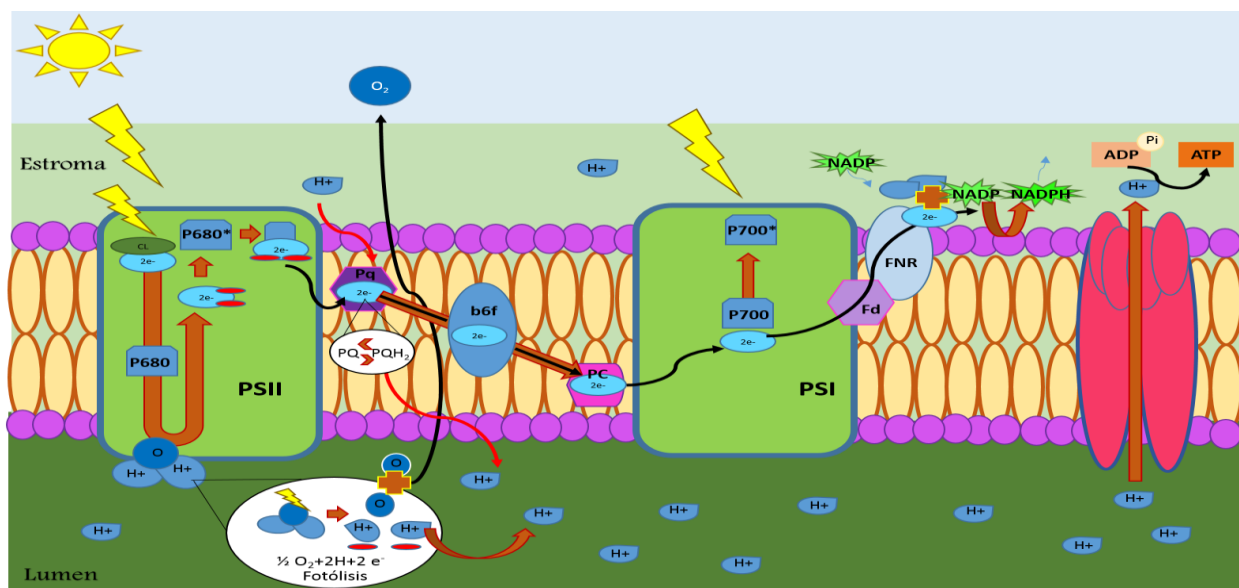
las plantas C4 como las CAM, fijan CO₂ en la noche y lo almacenan en vacuolas en forma de ácido málico, manteniendo cerrados los estomas durante el día.

Para que los organismos fotosintéticos puedan llevar a cabo la fotosíntesis, necesitan energía lumínica proveniente del sol, sin embargo, el exceso de radiación ultravioleta - como consecuencia del deterioro de la capa de ozono-, es uno de los inconvenientes que enfrentan al alterarse el equilibrio entre la cantidad de luz que entra a la atmósfera terrestre y la que los Complejos Colectores de Luz LHC (light harvesting complex) pueden tolerar, de manera que un aumento en los niveles energéticos de radiación solar daría lugar a fotoinhibición, al excederse el requerimiento fotónico de este proceso, generando destrucción fotooxidativa del aparato fotosintético (Casierra-Posada, 2007). Pese a la excelente capacidad de adaptación que surgió en las plantas C4 y que le confiere las características fisiológicas que poseen hoy en día, debe existir un punto límite en el que a elevados niveles de radiación ultravioleta se pueda presentar fotodaño de pigmentos fotosintéticos. De esta manera, surgen inquietudes por saber hasta qué punto y de qué manera, las plantas C4 pueden llevar a cabo sus especializaciones bioquímicas para contrarrestar los efectos nocivos en un ambiente cambiante y los efectos que pueden surgir al someterse a radiación UV-A, UV-B, UV-A/UV-B en conjunto y UV-C, como se ha probado en algunas investigaciones. El presente capítulo explica de manera detallada los aspectos generales que engloban la problemática de la destrucción de la capa de ozono, la repercusión de la entrada de mayor energía solar al planeta y cómo esto afecta el proceso fotosintético y otros aspectos fisiológicos de las plantas, y así tener una idea sobre las consecuencias ecológicas a futuro en las que se vería inmerso nuestro planeta si este fenómeno no es controlado.

1.2 VISIÓN GENERAL DE LA FOTOSÍNTESIS

1.2.1 Fase luminosa: Es la primera fase de la fotosíntesis y recibe este nombre ya que depende exclusivamente de la luz. Los responsables de la captación de luz en las hojas son los pigmentos fotosintéticos (Campbell & Reece, 2007), capaces de absorber radiación visible desencadenando una serie de reacciones químicas que dan como resultado la producción de oxígeno y ATP. Existen diferentes tipos de pigmentos fotosintéticos, sin embargo los principales son clorofila a, clorofila b y carotenoides. Cuando la molécula del pigmento absorbe energía lumínica, uno de los electrones de la molécula se excita llegando a un nivel de energía más alto.

Figura 1. Unidad Fotosintética.



Fuente: Autores

Según Pérez-Urria (2009) la unidad fotosintética está conformada por los fotosistemas I y II los cuales se encuentran conformados a su vez por una antena y un centro de reacción, la antena la componen los pigmentos fotosintéticos asociados a proteínas (siete moléculas de clorofila a, seis moléculas de clorofila b, y dos carotenoides) y el centro de reacción lo conforma una molécula de clorofila denominada Diana la cual transfiere los electrones excitados al aceptor primario de electrones (segundo componente del centro de reacción), ver figura 1.

La primera etapa de la fotosíntesis (reacción luminosa) consiste en transducción de energía. Se presenta así una serie de reacciones en cadena dependientes de la luz cuyo fin es la producción de ATP, con lo cual se genera oxígeno y NADPH de la siguiente manera:

1). La energía lumínica (fotón) que llega a la hoja, interactúa con los pigmentos antena del fotosistema I y II, excitando y liberando dos electrones, en el PSII estos electrones son transmitidos a una molécula aceptora, la plastoquinona, la cual también capta 2 protones del estroma. Así pues, la primera reacción fotoquímica deja la molécula P680 en un estado oxidado ($P680^+$) y el aceptor en un estado reducido PQ a PQH_2 . Los electrones perdidos tras la excitación en la molécula de clorofila, son repuestos tras la fase de oxidación del agua, en la que también se libera oxígeno a la atmósfera.

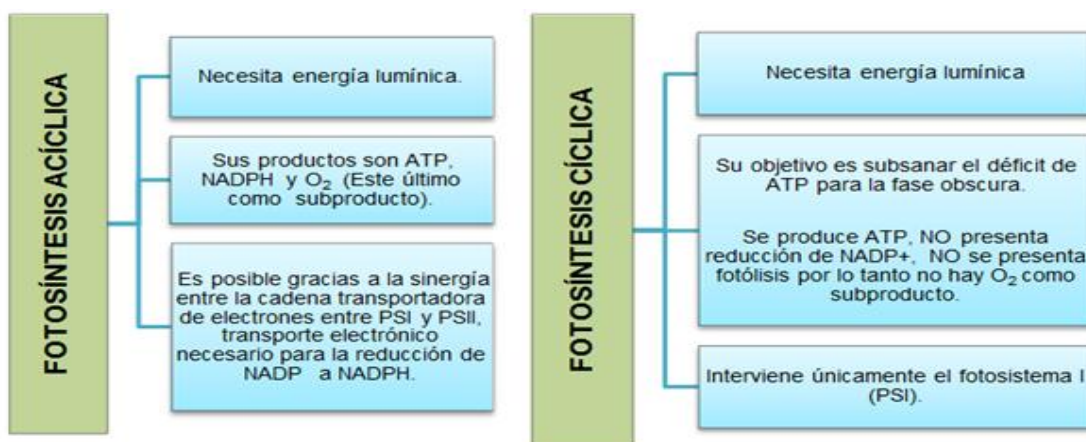
2). La molécula P680 del PSII con ayuda de la energía solar, realiza la fotólisis del agua, liberando protones y oxígeno. La plastoquinona se reduce (PQ a PQH_2) y estos electrones liberados atraviesan la cadena transportadora de electrones con la ayuda de los transportadores b_6f y PC. El citocromo b_6f , es un complejo enzimático formado por dos citocromos, el B6, el citocromo f y una proteína de Rieske hierro-azufre (Bowsher, steer & Tobin, 2008), cuya función es bombear protones al interior del tilacoides.

3). El b_6f , transporta los electrones al fotosistema I por medio de una proteína denominada plastocianina, allí la molécula P700, que funciona como aceptor electrónico, se oxida. Los electrones continúan su transporte a través de la proteína ferredoxina (Fd), la cual cede finalmente los electrones al $NADP^+$ para su reducción.

4). El $NADP^+$ capta 2 protones del estroma para su reducción a NADPH. Esta reducción es de vital importancia, ya que la NADPH se requiere para el ciclo de Calvin para la síntesis y producción de algunos azúcares como sacarosa y almidón, en lo que se conoce como fase oscura de la fotosíntesis.

5). Finalmente, se presenta la síntesis de ATP en un proceso conocido como fotofosforilación. Esto es posible gracias a las ATP-sintasas las cuales captan protones del lumen y los liberan hacia el estroma recuperando los protones captados por la b6f, de esta manera se regula la entrada y salida de protones en el complejo fotosintético. Sin embargo existen plantas con especializaciones fotosintéticas encontrándose así un flujo cíclico y/o acíclico, éstos se explican resumidamente en la figura 2.

Figura 2. Tipos de fotofosforilaciones presentes en plantas. La fotosíntesis cíclica permite subsanar el déficit de ATP obtenido en la fase acíclica para poder afrontar la fase oscura posterior (Karp, 2006).



Fuente: Autores.

Desde un punto de vista específico, la fotosíntesis de las plantas que presentan metabolismo C₃, comprende dos reacciones globales diferenciadas, en la primera se realiza la transducción de energía, y en la segunda la reducción y fijación del carbono en el ciclo de Calvin (Solarte, Moreno, & Melgarejo, 2010). La fotosíntesis en el fotosistema II (PSII) y fotosistema I (PSI) de las C₃ se lleva a cabo en un mismo cloroplasto de una misma célula, presentando el mecanismo fotosintético más básico.

Por su parte, el proceso fotoquímico en plantas C₄ se lleva a cabo en cloroplastos de células diferentes, encargándose de la fase luminosa los cloroplastos de las células del mesófilo y de la fase oscura los cloroplastos que rodean la vaina perivascular, además

se caracterizan porque el producto inmediato de la fijación de CO₂ es una molécula de 4 carbonos conocida como ácido oxalacético (Saenz, 2012).

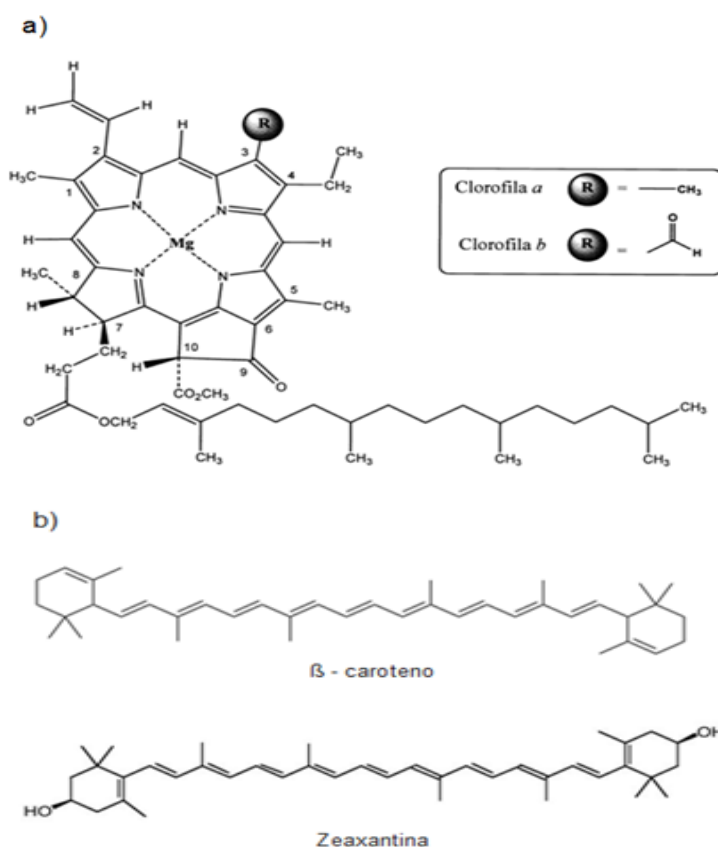
Existen algunos factores responsables de dichas especializaciones, como el déficit en ATP lo cual activa más la fotosíntesis cíclica que la acíclica. Radiaciones sobre 680 nm (conocida como rojo lejano) activan únicamente la fotosíntesis cíclica (Karp, 2006), igualmente existen plantas cuyas características fisiológicas y estructurales contribuyen a dicha activación como ocurre en las C₄, cuya distribución de las células y la presencia o no de pilas agranales en los cloroplastos son definitorios en este proceso. Caso de las C₄ tipo NADP-EM cuyos cloroplastos carecen de pilas agranales y polipéptidos asociados a PSII (Berry, 2001) por ende presentan una mayor activación de PSI y fotosíntesis cíclica (Un ejemplo de este tipo de plantas es el maíz y sorgo). En la fotosíntesis cíclica se sintetiza ATP pero no se puede oxidar al agua ni reducir NADP⁺. Este flujo es importante fuente de ATP en cloroplastos de plantas C₄, (Pérez-Urria, 2009).

1.2.1.1 Pigmentos fotosintéticos. Son los encargados de absorber la energía luminosa, con la cual los electrones pasan a otros niveles energéticos. Estos pigmentos (Clorofila *a*, *b*, carotenoides y sus derivados) se encuentran asociados a proteínas en los complejos de los dos fotosistemas.

La clorofila (Chl) es una porfirina sustituida con un átomo de Mg en el centro (Figura 3a) y su función es la de absorber luz mediante sus grupos cromóforos. La cadena hidrófoba que tiene como sustituyente le permite mantenerse anclada a la membrana del tilacoides. Los carotenoides (carotenos y xantofilas), son derivados tetraterpénicos que presentan dobles enlaces conjugados y un anillo ciclohexano sustituido insaturado en cada extremo de la cadena lineal. Los carotenos solo contienen en su estructura carbono e hidrógeno, mientras que las xantofilas además contienen oxígeno (Figura 3b) (Contreras, 2004 y Meléndez-Martínez, Vicario, & Heredia, 2007).) Algunos carotenoides naturales poseen centros quirales, por lo que pueden existir diversos isómeros de cada uno de ellos, como es el caso de la zeaxantina, capsantina, aloxantina, neoxantina entre otros (Meléndez-

Martínez et al., 2007). La principal función de estos pigmentos es la de actuar como pigmentos accesorios en la captación de energía lumínica y como moléculas capaces de disipar la energía de excitación excedente, en forma de calor, actuando como mecanismos de protección (Joshi et al., 2007; Manrique, 2003;) además en plantas vasculares, los carotenos son importantes como detoxificadores de las formas reactivas del oxígeno que se forman durante la fotosíntesis.

Figura 3. Estructura química de algunos pigmentos fotosintéticos. a) Clorofila *a*. b) Estructura del β -caroteno y de la zeaxantina.



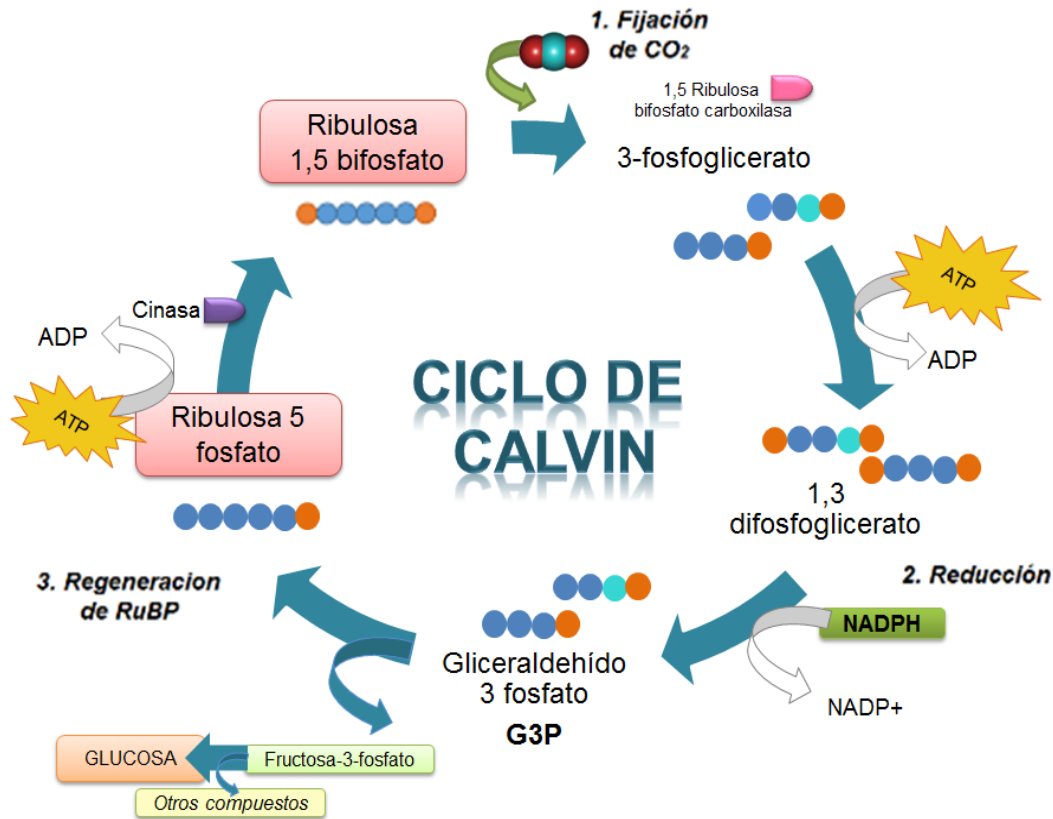
Fuente: a) Streit, Canterle, Weber do Canto y Hecktheuer (2005). b) Meléndez-Martínez, Vicario y Heredia (2007).

1.2.2 Fase oscura. La comprende una serie de reacciones cuyo fin es la fijación y reducción de CO_2 atmosférico en el estroma del cloroplasto, para la síntesis de carbohidratos necesaria para la planta. Para poder llevarse a cabo requiere de los productos de la fase luminosa como NADPH y ATP.

No todas las plantas llevan a cabo este tipo de reacciones de la misma manera y es en este punto en el que se clasifican según su metabolismo C_3 , C_4 y CAM. Como se mencionó anteriormente, las llamadas plantas C_3 deben su nombre porque a partir del ácido 3-fosfoglicérico se originan hexosas en el ciclo de Calvin; por su parte las plantas C_4 fijan el carbono mediante un intermediario de 4 carbonos y presentan un ciclo adicional al ciclo de Calvin conocido como ciclo de Hatch y Slack del cual se profundizará más adelante.

El ciclo de Calvin inicia con la captación de 3 moléculas CO_2 atmosférico el cual ingresa a las hojas por medio de los estomas, éste se une a un azúcar de 5 carbonos conocido como 1,5 Ribulosa bifosfato por medio de la enzima 1,5 Ribulosa bifosfato carboxilasa oxigenasa, de manera que el azúcar une un nuevo carbono a su molécula convirtiéndose en una hexosa muy inestable la cual se hidroliza rápidamente formando dos moléculas de 3-fosfoglicerato (en este punto y hasta llegar a G3P serán 6 átomos de carbono). Posteriormente, cada molécula de 3-fosfoglicerato se fosforila mediante la unión de un grupo fosfato proveniente del ATP formando 1,3-difosfoglicerato, el cual en presencia de NADPH se reduce a gliceraldehido 3-fosfato (G3P) perdiendo un grupo fosfato en el proceso. Aquí, una molécula sale del ciclo para ser utilizado por la planta como carbohidrato y las otras cinco moléculas se reciclan para regenerar las tres moléculas de RuBP (Campbell & Reece, 2007), ver figura 4a. En conclusión, para producir una molécula de glucosa (6C) se necesita fijar 6 CO_2 , gastar 18 ATP y 12 NADPH, los dos últimos productos de la fase luminosa.

Figura 4. Ciclo de Calvin.

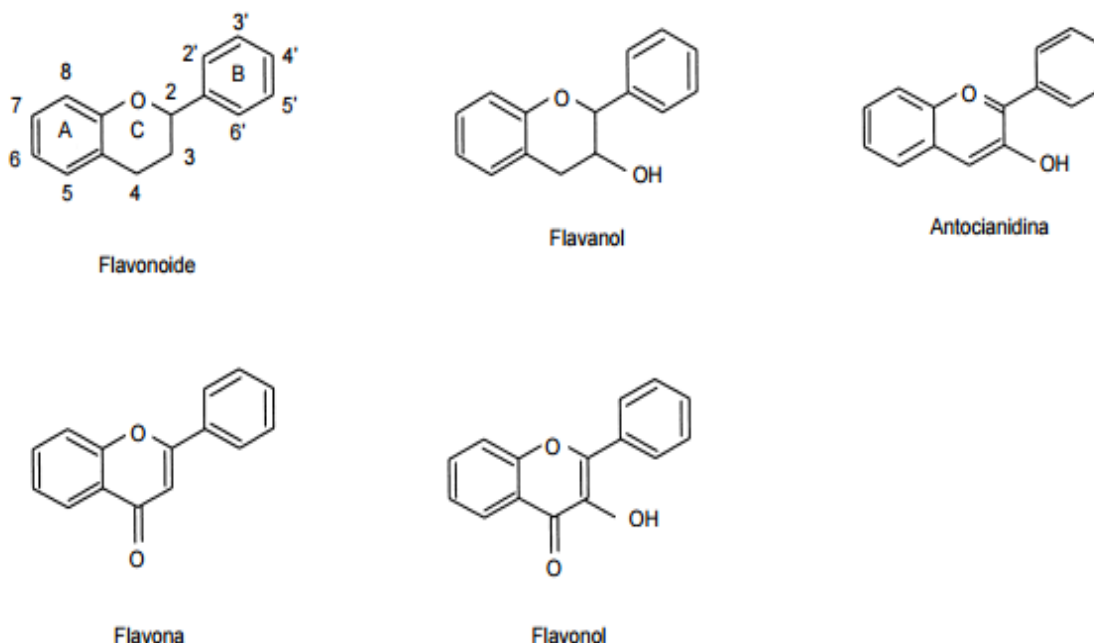


Fuente: Modificado de: Campbell y Reece (2007).

1.3 FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos fenólicos que se localizan principalmente en las hojas y partes externas de las plantas, incluido el polen. Se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C6-C3-C6, los cuales pueden formar o no un tercer anillo (Figura 5), además pueden presentar por lo menos tres hidroxilos fenólicos y se encuentran generalmente combinados con azúcares en forma de glucósidos (principalmente diglicósidos o triglicósidos de flavonoles, quercetina, kaempferol o miricetina) (Cartaya & Reynaldo, 2001). Aquellos que poseen en su estructura una gran cantidad de azúcares y grupos hidroxilos tienen característica polar, siendo solubles en etanol, metanol, butanol, acetona y compuestos polares.

Figura 5. Estructura básica, características estructurales y tipos de flavonoides.



Fuente: Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras y Tuñón (2002).

Actúan como compuestos secuestradores de radicales libres, por lo que su papel protector de la planta y el material genético frente a factores ambientales como rayos ultravioleta y/o contaminación ambiental son de vital importancia (Hofmann et al., 2000; Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras & Tuñón, 2002;). La funcionalidad de estos compuestos fenólicos se debe principalmente a que presentan una intensa absorción en la región ultravioleta, además, su función antioxidante depende de factores como su compartimentalización, potencial redox, presencia de dobles enlaces, glicosilación y niveles de hidroxilación (Carrasco-Ríos, 2009). La Quercetina posee una alta capacidad antioxidante, cuyas propiedades están relacionadas con su estructura química (Vicente-Vicente, Prieto, & Morales, 2013) de manera que actúa como protector frente a las especies reactivas de oxígeno, neutralizando radicales libres como aniones superóxido, óxido nítrico y peroxinitritos entre otros; por su parte Carrasco-Ríos (2009) indica que diversas investigaciones han comprobado la acción antioxidante de los flavonoides (principalmente antocianinas) frente a radicales hidroxilo y superóxidos como mecanismo de respuesta frente a radiación ultravioleta de tipo UV-B.

Tabla 1. Valores de absorción para las bandas II y I de algunos tipos de flavonoides.

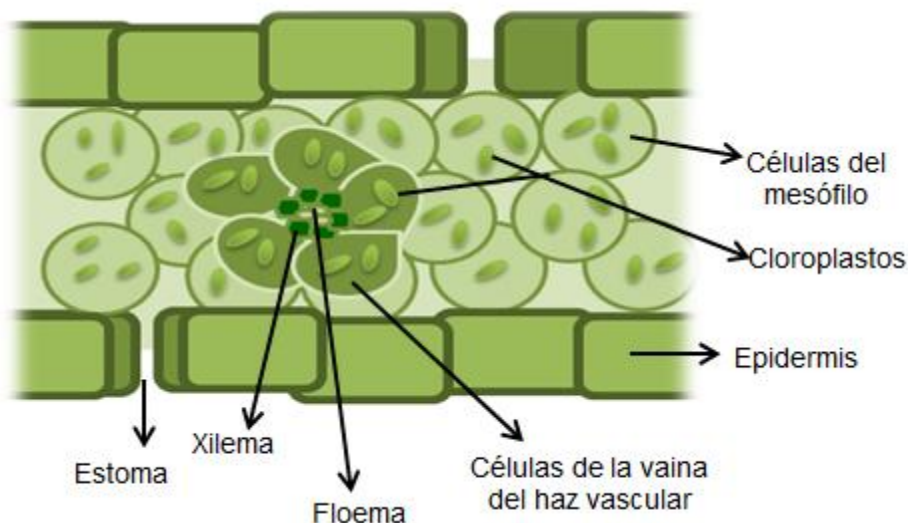
Banda II	Banda I	Tipo de flavonoide
250-280	310-350	Flavonas
250-280	330-360	Flavonoles (3-OH sustituido)
250-280	350-385	Flavonoles (3-OH Libre)
245-275	310-330h	Isoflavonas (5-deoxi-6,7-dioxi)
275-295	300-330h	Isoflavonas, Dihidroflavonas, Chalconas
220-270 (Baja intensidad)	340-390	Chalconas
230-270 (Baja intensidad)	380-430	Auronas
270-280	465-560	Antocianinas, Antocianidinas

Fuente: Lock (1997)

1.4 PLANTAS C4

Las plantas con metabolismo C4 son en su mayoría nativas de los trópicos y climas cálidos con elevadas intensidades de luz y altas temperaturas. Se caracterizan porque sus hojas presentan dos tipos de células fotosintéticas cada una de ellas con sus respectivos cloroplastos: las células del mesófilo y las células de la vaina del haz vascular (Vaina perivascular) conectadas entre sí por una extensa red de plasmodesmos lo cual facilita el intercambio metabólico (Berry, 2001; Lara, Drincovich, & Andreo, 2010; Pérez-Urria, 2009). Especies C4 se encuentran en las siguientes familias: Cyperaceae, Portulacaceae, Achantaceae, Asteraceae, Hydrocharitaceae, Euphorbiaceae, Amaranthaceae, Poaceae, Aizoaceae (Raghavendra & Sage, 2011). La fotosíntesis C4 está presente en 7500 especies de plantas con flores, (3% de las 250.000 especies de plantas terrestres) constituidas por gramíneas (4500 especies), juncos (1500 especies) y dicotiledóneas (1200 especies) (Sage, 2004. Citado por Pagano, Wolosiuk, & Chueca, 2010).

Figura 6. Esquema básico de una hoja de planta C4.



Fuente: Autores.

1.4.1 Fotosíntesis reacción luminosa: Las plantas C4 presentan una mayor eficiencia fotosintética comparada con las C3 y además tienen la cualidad de poder disminuir la pérdida de agua en ambientes secos y de temperaturas altas, lo anterior debido a la ganancia en la eficiencia del uso de agua, carbono y nitrógeno (Hatch, 1992).

Según Edwards y Walker (1983), Gil (1995), Maroco, Ku y Edwards (1997), Raya-Pérez y Aguirre-Mancilla (2007), una de las características fotosintéticas propias del metabolismo fotosintético C4 son los bajos niveles de complejos PSII activos que presentan los tilacoides de los cloroplastos de la vaina perivascular, característica principal del grupo EM-NADP como *Zea mays* y *Sacharum spp* (Maroco, et al., 1997) (Darie, De Pascalisb, Mutschlerc & Haehnelc, 2006) cuya estructura es agranal (Sage & Monson, 1999), presentando un enriquecimiento en PSI (Echeverría et al., 2010). Puede inferirse entonces, que este tipo de plantas presenta un mayor desarrollo de fotosíntesis cíclica (Campbell & Reece, 2007).

En cuanto a las características del PSII en este tipo de plantas, Westhoff et al. (1991) afirman que “la traducción del ARNm de las subunidades específicas del PSII en

cloroplastos de las células del mesófilo en plantas de maíz es 2,5 a 4 veces mayor que en los cloroplastos de las células de la vaina” además que la actividad del PSII de los cloroplastos de las células que bordean la vaina del haz vascular disminuye a medida que se da la diferenciación de la hoja y se da su inactivación incluso antes del desarrollo fotosintético de los cloroplastos y de la hoja.

Por lo anterior es posible comprender por qué los cloroplastos de las células del mesófilo, tienen un 70 a 100% de posibilidad de presentar flujo no cíclico de electrones (Edwards & Walker, 1983), ya que los tilacoides de las células que rodean la vaina del haz vascular producen sólo cantidades limitadas de NADPH debido a la baja actividad de complejos PSII (Majeran & Van, 2009). Majeran et al. (2008) comprobaron que el PSII en este tipo de plantas se encontraba reducido hasta un 55%, además que no existían cambios significativos en el contenido de ATP-sintasa, pero si corroboran el aumento en el contenido del complejo b6f hasta un 65% y un aumento del 33% del PSI. Por tal motivo en los cloroplastos de las células que rodean la vaina del haz vascular el ATP es producido principalmente debido al transporte cíclico de electrones. Por el contrario en estas mismas células, la puesta en marcha del transporte de electrones acíclico con intervención del PSII podría tener una menor producción de ATP (Darie et al., 2006).

Por otra parte la tasa fotosintética de plantas C4 como la caña de azúcar aumenta con la concentración de CO₂ (Wang, Guo, Li & Wang, 2012), además la conductancia estomática y altas temperaturas influyen en la optimización del proceso fotosintético siendo 34°C la temperatura ideal (Estévez, Cock, Hernández, & Irvine, 1986). Según Paliwal (2001) el maíz es una planta C4 con una alta tasa de actividad fotosintética, cuyas tasas máximas de fotosíntesis en el trópico se encuentran entre 30° y 40°C.

1.4.2 Fotosíntesis reacción oscura (Fijación de CO₂): Las plantas C₄, presentan algunas diferencias en cuanto al metabolismo del carbono entre esas la fase oscura de la fotosíntesis, a diferencia de las C₃, no se realiza en el estroma del cloroplasto sino en el citosol (Stata et al., 2014). Cuando la planta capta CO₂ atmosférico en el citosol de las células del mesófilo, la anhidrasa carbónica presente en ésta lo hidrata, una vez esto y en presencia de Mg⁺² el CO₂ hidratado reacciona con el fosfoenolpiruvato (PEP) para producir oxaloacetato (OAA) por acción de la fosfoenolpiruvato carboxilasa, la cual cataliza la β-carboxilación (Chollet et al., 1996). Teniendo en cuenta que, estas plantas elevan la concentración de CO₂ en la zona en la que se localiza la RuBisCO, esta enzima pierde actividad oxigenasa por lo tanto se evita la transpiración en la planta, haciéndola más eficiente, esta característica fue desarrollada como mecanismo de adaptación a ambientes secos o con elevadas temperaturas (Lara, Drincovich, & Andreo, 2010).

En este tipo de plantas, la reacción oscura fotosintética se divide en dos fases: La fase de carboxilación la cual tiene lugar en las células del mesófilo y la fase de descarboxilación a nivel de las células de la vaina del haz vascular (Edwards & Walker, 1983). Sin embargo algunos autores añaden una fase intermedia, la reducción también llevada a cabo en las células de la vaina del haz vascular.

En un esquema general de la fotosíntesis C₄, el fosfoenolpiruvato capta CO₂, el cual posteriormente es hidratado y transformado a oxalacetato (OAA), este último producto es reducido a malato por acción de la enzima malato deshidrogenasa ($\text{OAA} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Malato} + \text{NADP}^+$), o bien puede darse una transaminación a aspartato por la aspartato aminotransferasa ($\text{OAA} + \text{glutamato} \rightarrow \text{aspartato} + 2\text{-oxoglutarato}$). Estos dos productos de cuatro carbonos, malato y aspartato, son transportados a las células de la vaina para ser transformados en compuestos de tres carbonos por liberación de CO₂ en el ciclo de Calvin (Pagano, Wolosiuk & Chueca, 2010).

El nivel de CO₂ presente en las células de la vaina del haz depende de ciertos factores:

- 1) Presión parcial del CO₂ intercelular,
- 2) Solubilidad del CO₂ influenciado por la temperatura,
- 3) Capacidad de transporte de los ácidos por medio del plasmodesmo,
- 4)

Las siguientes reacciones de descarboxilación, 5) Refijación en vía Rubisco y 6) Fuga de CO_2 y/o HCO_3^- desde las células de la vaina del haz hacia las células del mesófilo por difusión pasiva (Kanai & Edwards, 1999.).

Otra característica importante de las C4 son las adaptaciones que presentan las enzimas implicadas en las reacciones fotosintéticas de la fase oscura, específicamente las enzimas encargadas de la carboxilación, encontrando que las plantas que tienen la enzima málica (ME) se clasifican como tipo NADP-ME; también existen las tipo PCK las cuales utilizan para la carboxilación la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (Berry, 2001) y las NAD-ME, difiriendo así en cuanto a la metabolización del oxalacetato (OAA) y en la enzima encargada de la carboxilación, encontrándose por tanto 3 tipos de plantas C4, (Edwards & Walker, 1983; Pérez-Urria, 2009; Lambers, Chapin III & Pons, 2008):

1). Plantas C4 NADP-ME: En estas plantas el OAA se forma en el citoplasma celular por acción de la PEP carboxilasa y posteriormente es transportado a las células del mesófilo donde se reduce a malato por acción de la enzima NADP-ME (Sage & Monson, 1999), parte de dicho OAA puede ser transformado en aspartato por acción de la aspartato aminotransferasa. El malato es descarboxilado en los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular por la enzima málico-NADP dependiente, liberando CO_2 y reduciendo a NADP. El PEP que se produce en la descarboxilación pasa a las células del mesófilo a ser fosforilado (Figura 7). Este tipo de plantas son deficientes en fotosistema II, y solo pueden trasladar la mitad de PGA hasta las células del mesófilo para la reducción, además las células del mesófilo son el principal sitio de potencial reductivo del NADPH. Ejemplo: Maíz (*Zea mays*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), pasto de cuaresma (*Digitaria sanguinalis*).

2). Plantas C4 NAD-ME: En estas, la responsable de la descarboxilación es la enzima málica mitocondrial, la cual es dependiente de NAD. El principal producto formado a partir de la fijación de CO_2 y la transaminación del OAA es el Aspartato (por acción de la aspartato aminotransferasa) en las células del mesófilo, este producto pasa a la mitocondria donde es desaminado por la aspartato aminotransferasa produciéndose

oxalacetato, transferido a malato por la NAD-malato deshidrogenasa, el cual es descarboxilado por la NAD-ME (Ku & Edwards, 1975).

El producto de la descarboxilación “Piruvato” es convertido a alanina el cual es enviado a las células del mesófilo para la síntesis de PEP (Furbank, Agostino, & Hatch, 1990) (Sage & Monson, 1999). Los cloroplastos presentes en las membranas tilacoidales de este tipo de plantas presentan granas desarrolladas y se encuentran localizados junto con las mitocondrias de manera centrípeta alrededor de las células del haz vascular. Ejemplo: Cenizo (*Amaranthus retroflexus*), Verdolaga (*Portulaca oleracea*), Mijo común (*Panicum miliaceum*).

3). Plantas C4 PEP-CK: Estas plantas presentan cierta diferenciación, ya que la descarboxilación en el citoplasma de las células del haz vascular es catalizada por la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y por otra parte las células de la vaina del Haz mitocondrial presentan cierta actividad de la enzima NAD-ME. Además pese a que el aspartato es el producto principal de la fijación de CO₂ (mediante la enzima aspartato aminotransferasa) en el citoplasma de las células del mesófilo, también puede formarse malato en los cloroplastos de las células del mesófilo. El aspartato formado en el citoplasma es transportado a las células de la vaina del haz donde es descarboxilado por la enzima PEP-carboxiquinasa, mientras que el malato pasa a ser descarboxilado por la enzima NAD-ME en las células de la vaina del haz mitocondrial.

Tras la acción oxidante de la NAD-ME se produce NADH (en la cadena transportadora de electrones mitocondrial) y con ello ATP (Sage & Monson, 1999). Según Carnal, Agostino & Hatch (1993) el ATP requerido en este tipo de plantas para llevar a cabo las reacciones metabólicas del carbono implicadas en la fotosíntesis C4, se deriva de la respiración mitocondrial ya que el proveniente de la fase luminosa de la fotosíntesis es despreciable. Los cloroplastos de las células del haz vascular de estas plantas presentan pilas de granas bien desarrolladas (Sage & Monson, 1999). Algunas plantas de este tipo: Pasto de Guinea (*Megathyrsus maximus*), Pasto rhodes (*Chloris gayana*).

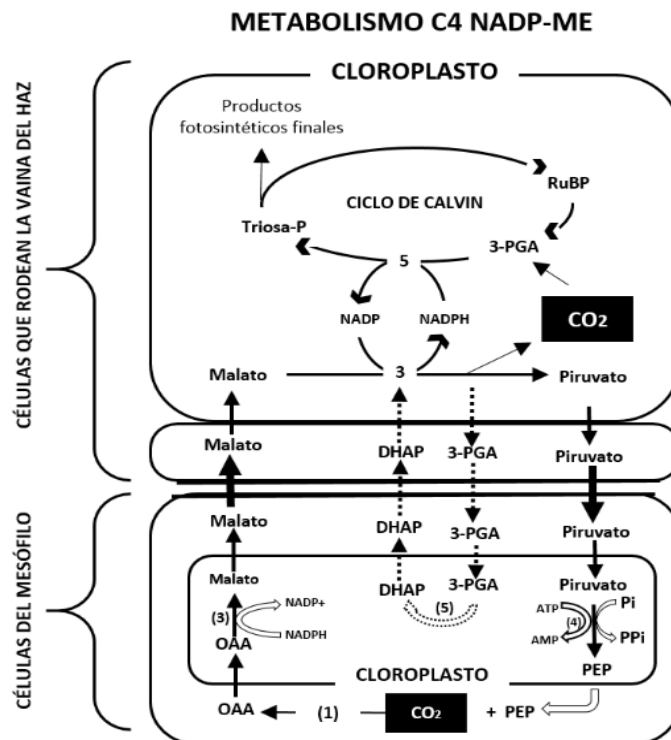
Tabla 2. Tipos de metabolismo de fijación del carbono en plantas C4.

TIPOS DE METABOLISMO C4			
Ejemplos:	Málico-NADP	Málico-NAD	PEP-CK
Sustancia transportada:			
<i>Mesófilo a Vaina</i>	Malato	Aspartato	Aspartato + Malato
<i>Vaina a Mesófilo</i>	Piruvato	Alanina	Alanina+PEP
Lugar de Carboxilación:	Citosol mesófilo	Citosol mesófilo	Citosol mesófilo
Lugar de descarboxilación	Cloroplasto	Mitocondria	Citosol
Enzima descarboxilante:	Málico-NADP	Málico-NAD	Fosfoenolpiruvato Carboxiquinasa
Cloroplastos de la Vaina:	Sin grana	Con grana	Con grana

Fuente: Modificado de: Lambers, Chapin III & Pons (2008).

En estas dos últimos tipos de plantas, el ATP es únicamente requerido para la síntesis de aspartato en las células del mesófilo. Por otra parte, la energía requerida para la fijación de CO₂ es similar en los tres tipos de C4: NAD-ME, requiere un gasto energético de 2 ATP; NADP-ME requiere 2 ATP y 1 NADPH por cada CO₂ transferido, y un suministro continuo de NADP en las células de la vaina del haz para la reacción de descarboxilación y por su parte PEP-CK requiere 2 ATP en las células del mesófilo y 1 ATP en las células de la vaina (Ku & Edwards, 1975).

Figura 7. Bioquímica del carbono de plantas C4 tipo NADP-ME (Metabolismo que corresponde a plantas de maíz, cañas de azúcar, entre otras).



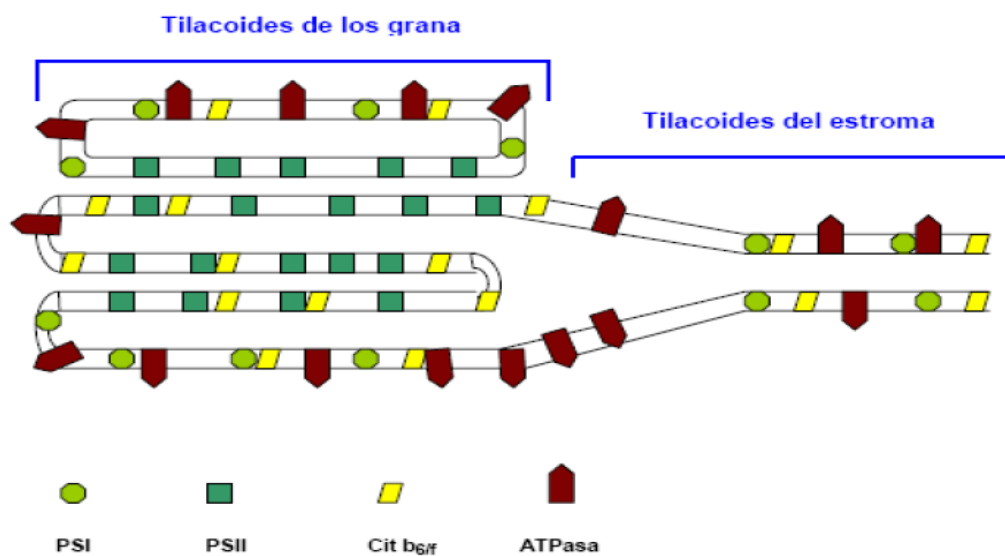
Fuente: Modificado de: Hatch (1987).

En las plantas C4, El 3-PGA y el G3P proporcionan a las células del mesófilo cadenas de carbono que sirven como sustrato para la biosíntesis de aminoácidos y como precursores de isoprenoides y lípidos, además, en las células que rodean el haz vascular la DHAP (Dihidroxiacetona-fosfato) permite la reducción del PGP (Fosfoglicolato fosfatasa) lo que da lugar a la eliminación del fosfoglicolato tóxico que se produce en la oxigenación de la enzima rubisco (Majeran & Van, 2009).

1.4.3 Características de los cloroplastos. A nivel general, los cloroplastos son discos con forma lenticular. Su interior lo conforma un estroma lipoproteico y unas zonas con mayor densidad conocidas como “grana”. Estos últimos están conformados a la vez por los tilacoides (estructuras apiladas en forma de disco) los cuales consisten en dos membranas conocidas como lamelas. Dichas membranas son las que contienen las unidades fotosintéticas (pigmentos fotosintéticos y fotosistemas) responsables de la

captación de luz (Fernández & Sancho, 1977); además la mayoría de plantas vasculares poseen un complejo plastidal con actividad NADH deshidrogenasa denominado complejo Ndh, cuya función es catalizar la transferencia de dos electrones desde el NADPH a plastoquinona (Guéra, Calatayud, Sabater, & Barreno, 2004). Las plantas C4 presentan variantes con respecto a los tipos de cloroplastos presentes en ellas, dependiendo de cómo se encuentran conformados, de manera que se presentan en las células del mesófilo con presencia de grana y los de las células de la vaina del haz vascular de tipo agranal como es el caso de las tipo NADP-ME, por ende este tipo de plantas carecen de PSII (Berry, 2001). Sin embargo en una investigación realizada por Vičánková y Kutík (2005) en hojas de maíz, se observaron pequeñas formaciones de granas durante toda la ontogenia de la hoja. Otra característica importante es que comparadas con las plantas C3, las C4 presentan una poca concentración de cloroplastos en las células del mesófilo, especialmente las de tipo PEP-CK, considerado como una adaptación esencial para la eficiente función C4 (Stata et al., 2014).

Figura 8. Distribución de los complejos proteicos en los tilacoides. Se aprecia una poca o nula distribución de PSII en los tilacoides del estroma; algunas plantas C4 presentan cloroplastos cuyos tilacoides son agranales, por la cual están enriquecidos con PSI.



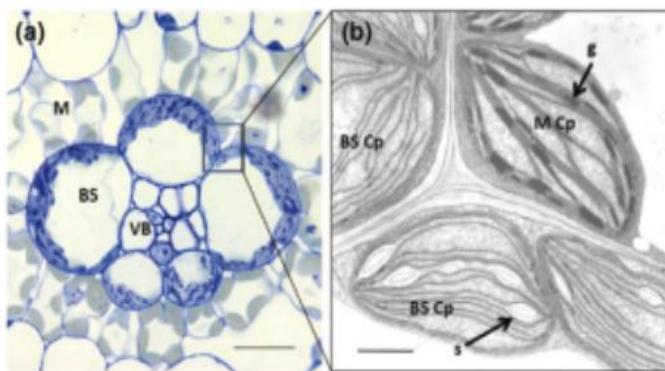
Fuente: Pérez-Urria (2009)

Según Majera & Van (2009), los cloroplastos presentes tanto en las células que rodean la vaina del haz vascular como las del mesófilo, acumulan cada una sus propias enzimas fotosintéticas y establecen una vía general para la fotosíntesis. Los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular de las especies NADP-ME presentan una pequeña unidad fotosintética, por ende presentan poco nivel de captación de luz en el centro de reacción de la clorofila (Edwards & Walker, 1983).

Edwards et al. (2001) demostró que los cloroplastos presentes en los tilacoides de las células del mesófilo tienen una cadena transportadora de electrones completa, es decir poseen PSII, PQ, Cb6f, PC, PSI como lo tienen las plantas C3 y que por su parte los tilacoides de los cloroplastos en las células que rodean la vaina del haz vascular, se presenta poca funcionalidad del PSII y un funcionamiento normal de PSI, por consiguiente muestran mayor actividad de fotosíntesis cíclica.

Figura 9. Micrografías electrónicas de la anatomía Kranz de una planta C4 (*Zea Mays*).

a) M: Células del mesófilo; BS: Células que rodean la vaina del haz vascular (Bs 10 mm); VB: Haz vascular. Se puede evidenciar la ausencia de pilas agranales en los cloroplastos de Bs. **b)** MCp: Cloroplastos de las células del mesófilo; BSCp: Cloroplastos de las células que bordean la vaina del haz vascular. (Bs1 mm). Bs: Barras de escala.



Fuente: Majeran y Van (2009).

Con respecto al complejo Ndh de plantas C4, presentan una mayor cantidad de dicho complejo en los cloroplastos de las células que bordean la vaina del haz vascular

(alrededor de 2 a 3 veces mayor) (Darie et al., 2006). Dicho comportamiento se debe a su participación en el flujo cíclico de electrones que se lleva a cabo en éstas, por otra parte Darie et al. (2006) afirman que en los cloroplastos de las células del mesófilo la alta concentración de O₂ presente y el desarrollo de pilas agranales conducen a una inhibición del flujo cíclico de electrones, además las altas concentraciones de oxígeno presentes aquí, pueden conducir a fotorrespiración y consumirse eficazmente por la reducción de la plastoquinona PQ en una reacción catalizada por el complejo Ndh.

1.4.4 Pigmentos fotosintéticos: Para que las plantas puedan llevar a cabo procesos fundamentales como la fotosíntesis depende principalmente de la presencia y funcionamiento de importantes moléculas captadoras de luz conocidas como pigmentos fotosintéticos, éstos son capaces de absorber radiación solar en diferentes tipos de longitudes de onda originando así las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis; éstos en su mayoría actúan como complejos antena captadores de luz, además de intervenir en la transmisión de dicha energía lumínica al centro de reacción donde se transportan los electrones (producto de su interacción con los fotones) a una molécula aceptora de electrones.

Edwards & Walker (1983) afirman que en plantas C4 “la distribución de la clorofila en las células del mesófilo y las células de la vaina del haz vascular depende de la capacidad de captación de luz de los cloroplastos”, por su parte (Bastías, Díaz, Pacheco, Bustos, & Hurtado (2011) pusieron en evidencia que plantas de maíz presentan una mayor concentración de clorofila a con respecto a clorofila b y está relacionado con el potencial fotosintético de la planta; sin embargo, Bako (2006) determinó que en plantas de maíz, el contenido de clorofila depende del estado fenológico de la planta.

Analizar los pigmentos fotosintéticos y estudiar su dinámica a través del tiempo permiten conocer mejor el comportamiento de las plantas durante su ciclo de desarrollo, además de permitir dar conclusiones con respecto a la capacidad de utilización de la energía lumínica, CO₂, agua y nutrientes, contribuyendo en el diseño de sistemas de manejo eficientes (Fortes et al., 2009).

1.4.5 Estado de los estomas: Los estomas cumplen funciones muy importantes dentro de la planta, como lo relacionado con aspectos fotosintéticos y de transpiración. Lo anterior tiene que ver con la difusión de CO₂ atmosférico dentro de la hoja, el cual es importante para llevar a cabo la bioquímica del carbono en procesos como la regeneración de enzimas de carboxilación y la síntesis de carbohidratos, además son importantes para la difusión de vapor de agua al exterior, siendo estos procesos controlados por la apertura o cierre del aparato estomático. Teniendo en cuenta lo anterior, son la luz y la concentración de CO₂ quienes controlan la apertura estomática en relación con la demanda fotosintética de CO₂ de la planta (Farquhar & Sharkey, 1982). Los tipos de estomas varían según la especie de planta, por ejemplo los presentes en la cara abaxial de hojas de plantas de maíz *Zea mays* son de tipo paracítico teniendo en cuenta que presenta dos células subsidiarias o anexas de forma triangular, las cuales se encuentran dispuestas paralelamente con respecto a las oclusivas.

La conductancia estomática está relacionada con el grado de apertura de los estomas, en plantas C₄ es un factor influyente en la tasa de fotosíntesis y tiene que ver con su especificidad en la fijación y transformación del CO₂ como lo aseguran Huxman y Monson (2003), de manera que la anchura del poro estomático puede determinar la conductancia estomática de la planta al estar directamente relacionados. La anchura del poro estomático depende entre otras cosas de la forma y propiedades de la pared de las células guarda (Araus, 1982).

Las plantas C₃ y C₄ se identifican por los patrones de respuesta de sus estomas a las condiciones de luz y otros factores ambientales como humedad y disponibilidad de agua en el suelo. Además, estos cambios ambientales pueden alterar parámetros como la densidad estomática, tamaño del estoma y la ubicación del mismo, llevando a la alteración de la conductancia estomática y con esto desmejorando la asimilación del carbono por parte de la planta (Maherali et al., 2002).

Por otra parte, en plantas C₄, las células oclusivas responden de manera indirecta a través de una señal química que proviene de las células del mesófilo (Wong, cowan y

farquhar 1978), estudios reportados por Huxman y Monson (2003) afirman que específicamente las plantas de maíz presentan este tipo de respuesta como una alta sensibilidad estomática; además presentan tasas máximas de fotosíntesis y conductancia estomática menor comparadas con las C3 (Ripley, Gilbert, Ibrahim & Osborne, 2007), esto explica cómo las C4 solventan el riesgo de transpiración y evaporación en condiciones ambientales de temperatura y luminosidad drásticas. Sin embargo, Catsky y Col (1973) citado por Araus (1982) afirman que la conductancia estomática no varía frente a fluctuaciones en la irradiancia.

La Densidad estomática es el número de estomas por unidad de área (Chaimsohn, Montiel, Villalobos & Mora, 2008). Según Araus (1982) la densidad estomática y formación del estoma, aumenta y se genera respectivamente a medida que la hoja se expande y, va descendiendo paulatinamente a medida que la hoja envejece, además la división estomática cesa en algún punto del desarrollo de la hoja. Givnish (1988) citado por Maherali et al. (2002) afirma que las hojas que presentan mayor exposición al sol tienen densidades más altas de los estomas, esto es de esperarse si se tiene en cuenta que la densidad estomática varía con las condiciones ambientales (Brownlee, 2001. Citado por González, 2014); del mismo modo, existen ciertas disposiciones que permiten solventar dichas influencias ambientales como el aumento de la abertura estomática (Bussis et al., 2006) en casos de exposición a mayores niveles de radiación solar.

No obstante, las respuestas en cuanto a densidad estomática, conductancia estomática e índice estomático, son propias de cada especie de planta, por ejemplo las plantas de maíz presentan una relación inversa entre la densidad estomática y la capacidad fotosintética en condiciones de alta radiación solar; de hecho, estas respuestas pueden variar en hojas de una misma planta y partes de la misma hoja.

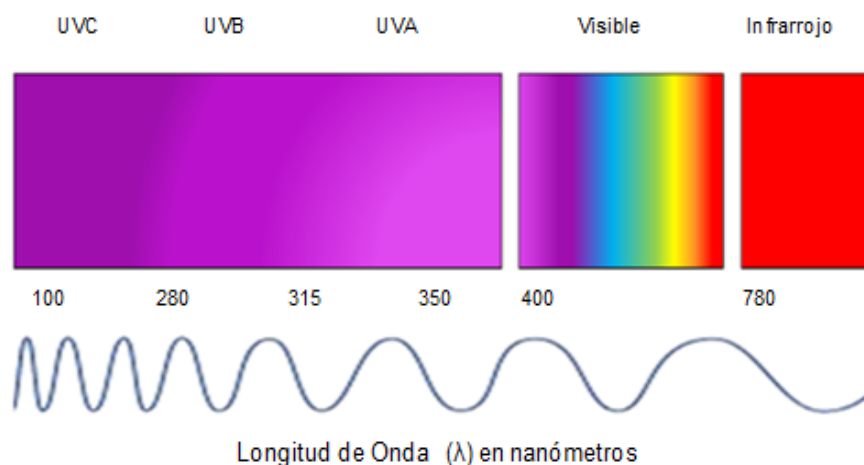
Por su parte, el índice estomático. “Es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que se experimentan durante los días precedentes a la diferenciación de los estomas de la hoja” (Schoch et al., 1980. citado por Reyes-López et al., 2015). De esta

manera, la humedad relativa y la intensidad de la luz durante el desarrollo de la hoja afectan al valor del índice estomático.

1.5 LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

La radiación solar llega a la capa estratosférica del planeta tierra en diferentes longitudes de onda; según la longitud y la energía se clasifica en diferentes tipos, siendo las más conocidas: radiación infrarroja (IR), radiación visible (VIS), radiación ultravioleta (RUV) (Figura 10). La radiación Infrarroja (IR) cuya longitud de onda comprende desde los 760-780 nm hasta los 10000 a 15000 nm (Límite del espectro al que pertenece las microondas) produce cambios en los estados de energía de electrones en los átomos o en los estados vibracionales y rotacionales de los enlaces moleculares en los cuerpos calientes (Monsalvo, 2009); constituye el 59% del espectro de emisión solar y 40% de la radiación que llega a la superficie terrestre y con energía Quantum: 0.0012 - 1.65 eV.

Figura 10. Espectro de radiación solar.



Fuente: Autores

La radiación visible (VIS) (350 nm a 750 nm, energía Quantum: 1.65 - 3.1 eV) es la radiación que es capaz de percibir el ojo humano, es la utilizada por las plantas para el proceso de fotosíntesis, por esta razón se le conoce como radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés) (Carrasco-Ríos, 2009). La radiación ultravioleta

(RUV) constituye la porción más energética del espectro electromagnético que incide en la superficie de la tierra, con energías quantum que van de 3.1 a 124 eV. Según Casal (2010) “se produce por saltos de electrones en átomos y moléculas excitados”. Esta región del espectro electromagnético presenta longitudes de onda desde los 100 a 400 nm y se divide en: UV-A (315–400 nm) UV-B (280–315 nm) UV-C (100–280 nm) (Organización mundial de la Salud (OMS), 2003), siendo esta última la más nociva. El 95% de la radiación UV-A llega a la superficie del planeta, en contraste la UV-B es parcialmente absorbida por el ozono entrando sólo un 5% (Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006), y la UVC es absorbida totalmente (Benavides, 2010).

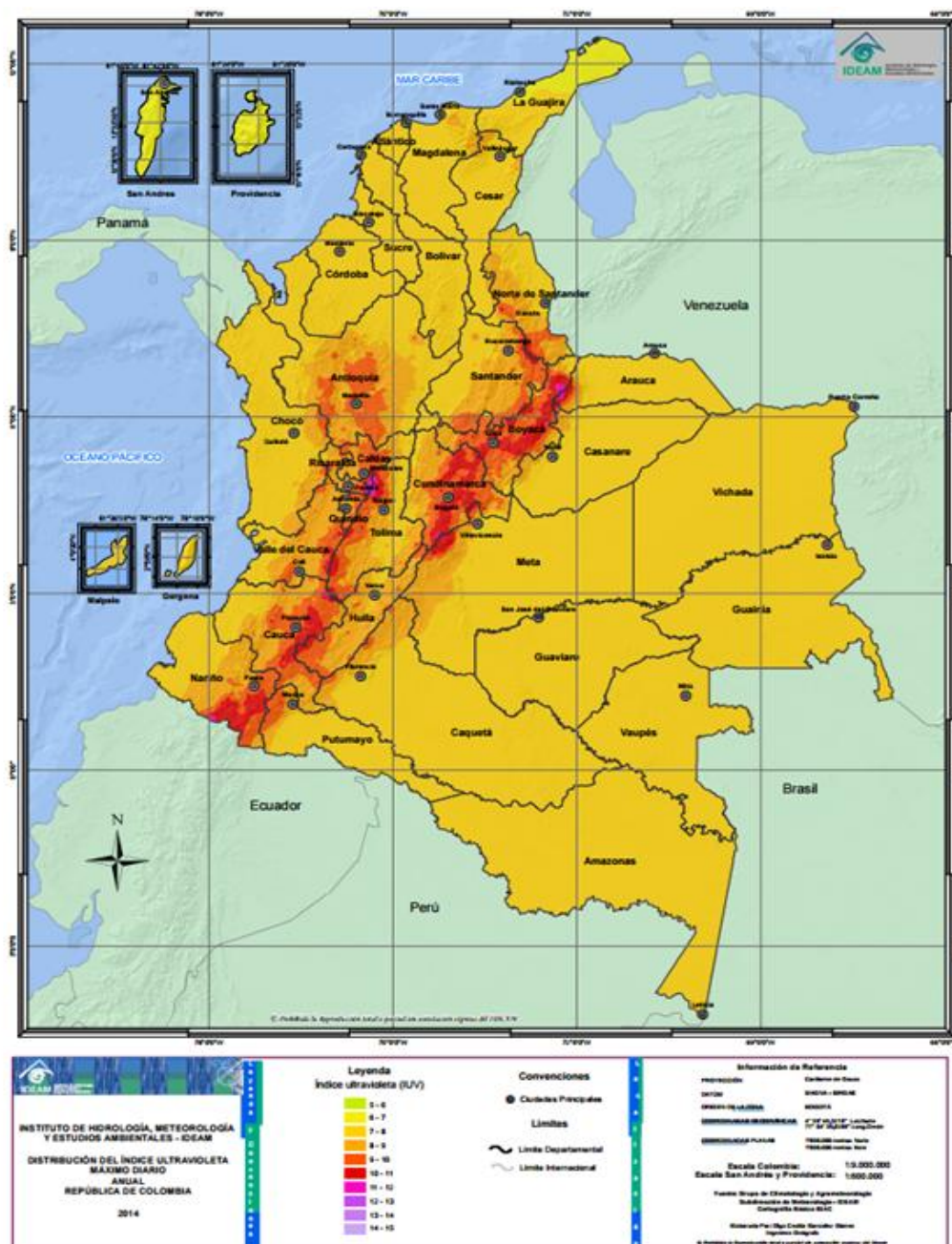
Se ha demostrado, que los niveles de energía UV que atraviesa la estratosfera del planeta, alcanza mayores niveles en las regiones tropicales, comparado con las zonas templadas, de manera que dichos niveles dependen de la latitud y la altitud (Kataria, Guruprasad, Ahuja, & Singh, 2013; Manrique, 2003).) A una mayor altitud, la atmósfera tiende a un adelgazamiento por lo cual la absorción de radiación UV es menor; con cada 1000 metros de incremento de la altitud, la intensidad de la radiación UV aumenta en un 10 a 12% así mismo cuanto más cerca del ecuador, más intensa es la radiación UV (OMS, 2003).

Para el caso de Colombia, los niveles de radiación son altos, más en la región andina dadas sus características altitudinales propias de la cordillera (ver figura 11), presentándose valores extremos de radiación en un nivel que va de los 10.5 a los 14.5 en un rango de 0.5 a 14.5 (instituto de Hidrología, Metereología y Estudios Ambientales IDEAM, 2014). Un ejemplo de lo anterior son los páramos, bioma Neotropical de alta montaña caracterizado por su elevada radiación solar (Meizner et al., 1985. Citado por Castrillo, 2006).

En Colombia no existen datos concretos de los índices de radiación solar diario para la región de páramo según lo indica la Red Nacional, sin embargo el Atlas de Radiación Solar para Colombia, presenta datos de la energía solar promedio indicados para algunas regiones del país presentando la región andina el máximo valor de 1643 kWh/m²

/año, comparado con la región amazónica con 1551 kWh/m² /año y la pacífica con 1278 kWh/m² /año.

Figura 11. Promedio de distribución del índice ultravioleta máximo anual en Colombia.



Fuente: IDEAM (2014). Disponible en:

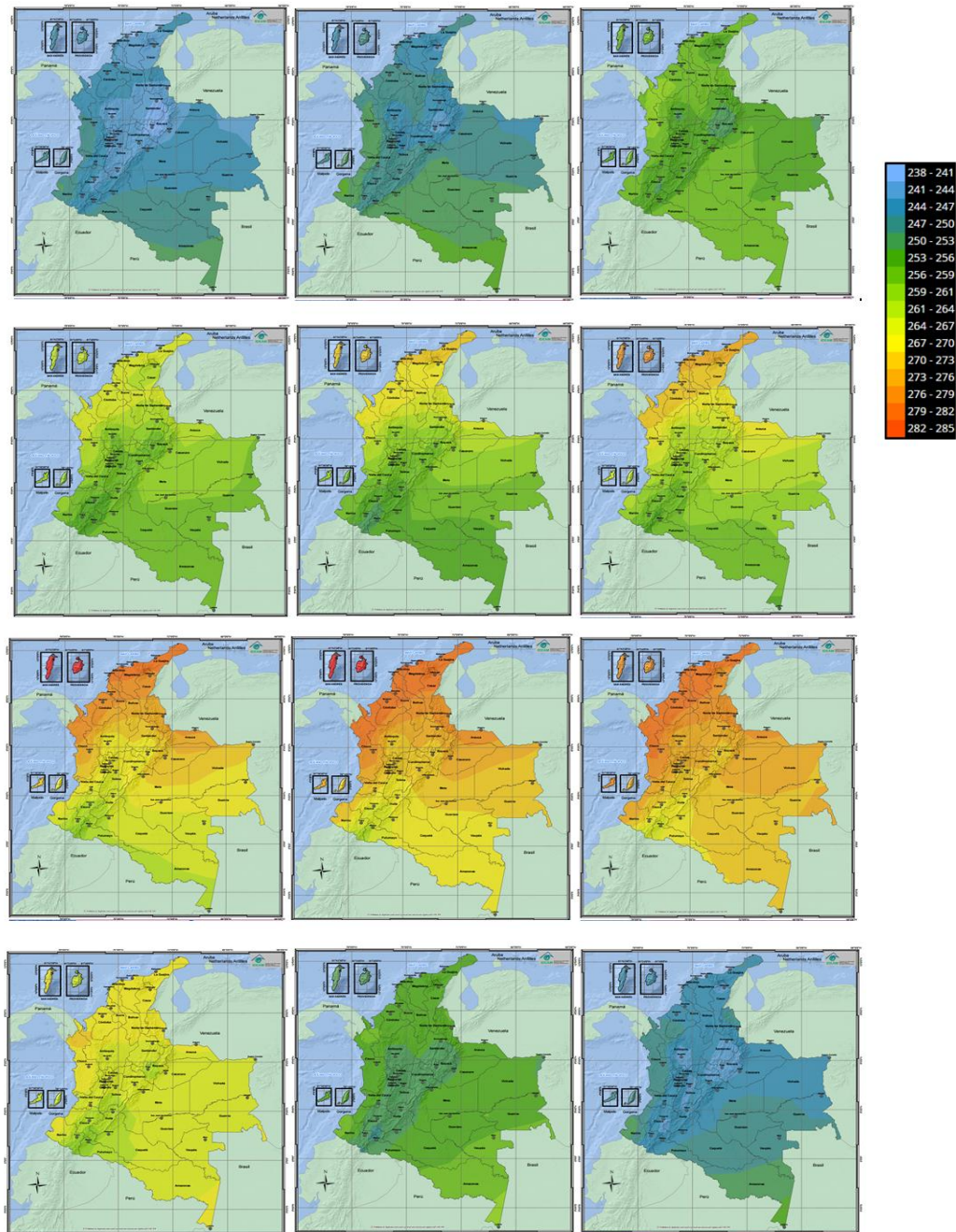
http://atlas.ideam.gov.co/basefiles/RadiacionPDF/UV_12.pdf

Por otra parte, la concentración de ozono es variante dependiendo del mes del año, es así como en los meses de diciembre, enero y febrero la distribución del ozono es mucho más bajo por lo que hay una mayor exposición a radiación ultravioleta, por el contrario en meses como julio, agosto y septiembre se evidencian valores más altos de ozono (por lo general comienza a abrir en agosto de cada año y alcanza su máxima extensión del área en octubre con una tendencia de 4.9 ± 4.7 millones de km^2 aproximadamente (Solomon et al., 2016).

Según el IDEAM el ozono atmosférico en el mes de enero se caracteriza por presentar los valores más bajos, en el rango de 235 a 245 Unidades Dobson. A nivel regional, el sur de la región Caribe y el norte de la región Andina registran las menores concentraciones de ozono y por ende una mayor radiación ultravioleta (Stavro, 2007), especialmente en zonas de montaña de Antioquia, Santanderes, Boyacá, Cundinamarca, Eje Cafetero, Tolima, Huila, Chocó, Valle, Cauca y Nariño y en ciudades como Pasto y Bogotá (IDEAM, 2010) ver figura 12.

Las longitudes de onda más cortas de la radiación ultravioleta, son las más dañinas en cuanto a su incidencia sobre los seres vivos, esto radica en que dichas longitudes de onda presentan una mayor energía, los efectos nocivos van desde alteraciones a nivel molecular (daños a nivel del ADN), celular (alteraciones de orgánulos en plantas como cloroplastos), individual (peces, anfibios) o de ecosistema (favoreciendo especies más resistentes, alteración del zooplancton y fitoplancton), hasta afecciones de la salud humana (Cáncer de piel, quemaduras, mutaciones, cataratas).

Figura 12. Distribución promedio de la columna total de ozono en el año 2014 sobre el territorio colombiano (Unidades Dobson UD).



Fuente: <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasRadiacion.html>

Según Cortés et al. (2011), son varios los factores que influyen sobre la radiación que ingresa al planeta tierra, tales como:

- *La elevación solar:* Según el eje perpendicular en el que se encuentre el sol con respecto al planeta, se presenta o no una mayor elevación en la intensidad de la radiación ultravioleta, debido a que el sol encuentra un menor espesor de la atmósfera terrestre. Según la OMS (2003) en épocas de verano la radiación ultravioleta incidente sobre el planeta es mucho mayor que en otras temporadas, especialmente en horas de mediodía; por el contrario, según Benavides (2010) en una nota técnica del IDEAM afirmó que:

“Cuando el ángulo del Sol está más cercano al horizonte llega menos radiación UV a la superficie de la Tierra debido a que atraviesa una distancia más larga en la atmósfera y encuentra más moléculas de ozono, dando lugar a una mayor absorción”.

- *La altitud:* Como se explicó con anterioridad, a mayores elevaciones, el espesor de la atmósfera disminuye, por lo tanto, los organismos que circundan sobre estos ecosistemas son más susceptibles a padecimientos por esta radiación o presentan adaptaciones a la misma.
- *La latitud:* Este factor tiene que ver con el fenómeno explicado anteriormente sobre la perpendicularidad de la tierra, en el ecuador los rayos del sol caen de manera más perpendicular, por ende cuanto más cerca al ecuador, mayor será la radiación.
- *La reflexión por el suelo o determinadas superficies:* Según la superficie en la que caen los rayos ultravioleta, así mismo se reflejan o dispersan. Por ejemplo la nieve refleja hasta un 80%, la espuma del agua de mar hasta un 25% (OMS, 2003).
- *Nubosidad:* Dependiendo del espesor y tipo de nube se puede disipar la radiación ultravioleta que ingresa al planeta tierra.
- *Ozono atmosférico:* Se puede decir que el ozono, es el protector solar por excelencia para el planeta tierra y los organismos en él, esta capa absorbe y dispersa la radiación UV, por ende el deterioro de la misma puede permitir el ingreso de radiación ultravioleta de mayor energía sobre la biosfera.

Proyecciones indican que la cantidad de radiación UV-B alcanzará mayores niveles en la superficie del planeta en los próximos años (Barbato et al., 2000), el PNUMA, aseguró

en el 2005 que en algunas partes de la Antártica se ha destruido aproximadamente hasta un 60% de la cantidad total de ozono (Pyle, 1996 citado por Frohmeyer & Staiger, 2003) debido a esto, desde 1980 al 2009, el flujo de radiación UV-B principalmente dentro del rango de los 290-315 nm aumentó en la tropósfera en promedio 6-14% (Kakani et al., 2003a). Por lo anterior, es indispensable considerar medidas preventivas y de mitigación de dicho impacto, razón por la cual estudios específicos sobre los efectos de la radiación ultravioleta sobre el planeta y sus diferentes factores ambientales son de vital importancia.

1.6 LA PROBLEMÁTICA EN LA CAPA DE OZONO

El conocimiento de la atmósfera del planeta tierra resulta de gran importancia si se tiene en cuenta que del equilibrio de su composición (principalmente química) depende la vida en él, son diversas las moléculas y su concentración en la atmósfera, cada una cumpliendo una función dentro de la dinámica de la misma. Si bien es cierto, el planeta tierra se encuentra constantemente expuesto a diferentes tipos de contaminación y contaminantes, siendo una problemática a nivel de la corteza, la hidrósfera, la biósfera y la atmósfera. No cabe duda que la alteración de cualquiera de las fases que componen el planeta repercute directa e indirectamente sobre la atmósfera su composición y comportamiento.

Las fuentes de contaminantes atmosféricos pueden ser fijas antrópicas (fábricas, quemas), fijas naturales (Incendios, erupciones volcánicas) o móviles antrópicas (gases de combustión de aviones, barcos, automóviles), así mismo los contaminantes pueden clasificarse en *primarios*: sustancias vertidas directamente sobre la atmósfera desde las fuentes, algunas de las problemáticas que causan son smog, efecto invernadero, entre otros; y/o *secundarios*: se forman al llegar a la atmósfera a través de procesos químicos que sufren los contaminantes primarios y son por lo general los causantes de las problemáticas ambientales más alarmantes, como lo es la destrucción de la capa de ozono. Algunos ejemplos de dichos contaminantes son: gases como el CO₂, CH₄, NO_x,

SO_x y otros químicos sintéticos como los CFC (Clorofluorocarbonos), bromuro de metilo, entre otros.

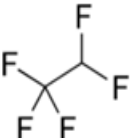
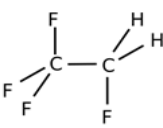
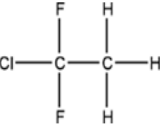
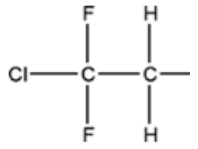
El ozono y más exactamente la capa de ozono, es el factor que influye en la atenuación de la radiación electromagnética que ingresa al planeta tierra; éste absorbe radiación UV entre 200-290 nm. Se produce constantemente debido a una serie de interacciones entre la radiación ultravioleta y el oxígeno que tienen lugar a nivel de la estratósfera (Zea, León & Eslava, 2000).

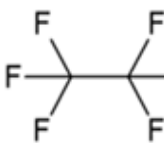
Sin embargo el ozono estratosférico puede reaccionar con algunas otras moléculas presentes en la atmósfera (cuya estructura posee átomos de cloro, bromo, flúor, entre otros), las cuales lo pueden descomponer tras una serie de reacciones. A estas sustancias contaminantes se les conoce como Sustancias Agotadoras de Ozono (SAO); según el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). Dicha destrucción de la capa de ozono ha tenido consecuencias muy marcadas, ya que a mediados de siglo se registraron valores cercanos a 500 U.D y para la década de los 90 se había reducido un 30%. Para determinar que existe un agujero en la capa de ozono, el valor del ozono debe estar por debajo de las 200 U.D (Zea, León & Eslava, 2000).

Algunas de esas sustancias agotadoras de ozono se conocen como halocarbonos, los cuales a su vez son gases de efecto invernadero y son utilizados principalmente en refrigeración, aire acondicionado, como agentes expulsos para espumas, como fluidos dieléctricos y para la fabricación de espumas de poliuretano; según el Protocolo de Montreal deben ser eliminados para el año 2030. Se derivan de los hidrocarburos y deben su nombre a la sustitución por flúor, cloro, bromo de todos o algunos de sus átomos de hidrógeno entre estos se conocen: hidroclorocarburos, hidrobromocarburos. En la tabla 3 se pueden apreciar algunos HCFC. La dinámica de estas sustancias inicia cuando al llegar a la atmósfera reaccionan con la radiación ultravioleta, desprendiendo los halógenos presentes en ella (cloro, bromo, flúor) como radicales libres que interactúan con el ozono presente en la estratosfera, descomponiéndolo y formando monóxidos con

el halógeno, igualmente el halógeno se disocia y se continúa con la cadena de destrucción de miles de moléculas de ozono. Ver figura 13.

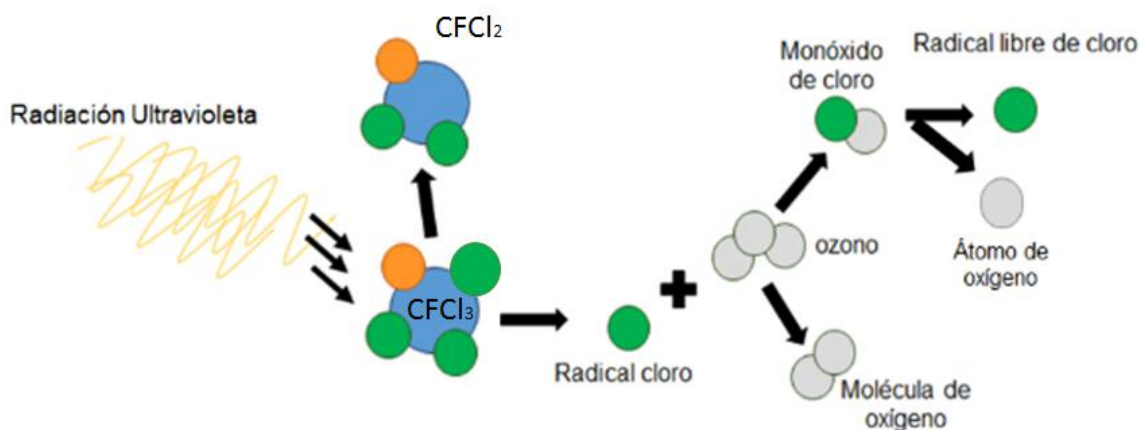
Tabla 3. Algunos compuestos halógenos presentes en la atmósfera.

Designación	Nombre	Fórmula	Estructura molecular	Usos
HFC-125	1,1,1,2,2-Pentafluoroetano	CF_3CHF_2		Componente de mezcla para aire acondicionado. Refrigeración comercial y bombas de calor. Fabricación de extintores.
HFC-134a	1,1,1,2-Tetrafluoroetano	CH_2FCF_3		Refrigerante para móvil y para el hogar. Frigorífico/congelador. Componente de mezcla para inmóvil con aire acondicionado y refrigeración comercial.
HCFC-141b	1,1-dichloro-1-fluoroetano	CCl_2FCH_3		Utilizado anteriormente en la UE como agente de expansión para el poluretano y espumas fenólicas.
HCFC-124	1-Chloro-1,2,2,2-tetrafluoroetano	CHClFCF_3		Sólo para ser usado como refrigerante reciclado o regenerado.

Designación	Nombre	Fórmula	Estructura molecular	Usos
PFC 116	Perfluoroetano	CF ₂ F ₆		Industria de semiconductores. Especialista de refrigerante a baja temperatura.

Como medida de mitigación del impacto ambiental generado, se diseñó un nuevo halocarbono cuya estabilidad le confería menor probabilidad de disociarse y expulsar radicales libres que interactúan con el ozono, además son por lo general menos tóxicos que los halocarbonos bromados y clorados ya que existe una mayor estabilidad entre C-F, un ejemplo de dicho compuesto es el bromoclorodifluorometano (CClBrF₂) y el tetrafluoroetano convirtiéndose en sustitutos de los CFC.

Figura 13. Reacciones químicas que se dan a nivel de la estratósfera entre el ozono y moléculas halógenas, en este caso el cloro, responsables del deterioro de la capa de ozono.

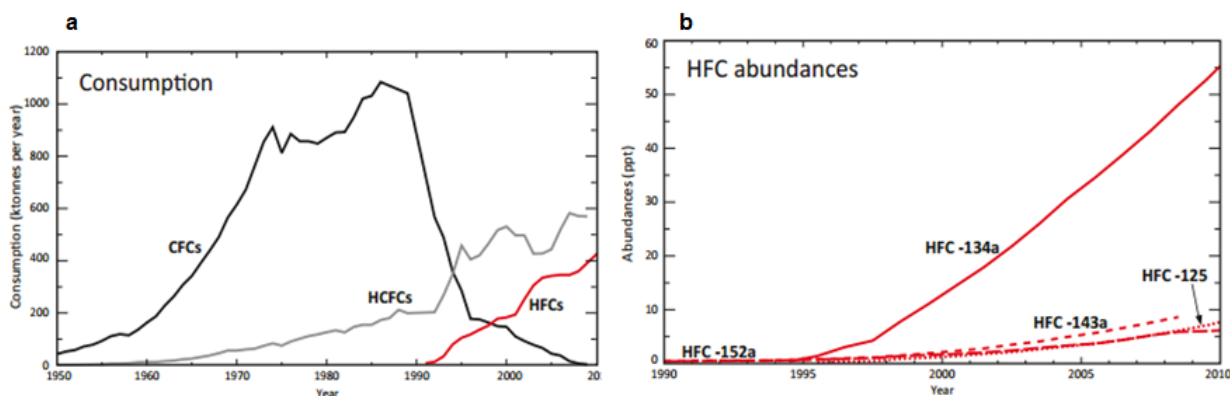


Fuente: Autores.

Pese a que en la actualidad se han minimizado el uso de SAO, los daños ocasionados por estas sustancias siguen teniendo repercusiones en el ambiente debido a su estabilidad y perdurabilidad en la atmósfera ya que según el grupo intergubernamental

de expertos sobre el cambio climático (2005) “la mayoría de los CFC se eliminan de la atmósfera en escalas temporales que van de los 50 a los 100 años. Con excepción del HFC-23, que tiene una vida de 270 años, los HCFC y los HFC se eliminan de manera eficiente de la troposfera mediante procesos de oxidación”. Por lo anterior es necesario que se sigan investigando propuestas con respecto a los sustitutos de dichas sustancias ya que si bien es cierto se controla una problemática ambiental pero se incrementa otra como lo es el calentamiento global.

Figura 14. Consumo mundial de los principales CFC y HCFC en los años 90s y el HFC como sustituto. (a) Consumo mundial (en kilotoneladas por año) CFC y HCFC, y la introducción gradual de los HFC como sustitutos. (b) Concentraciones atmosféricas globales promedio de cuatro HFC principales utilizados desde 1990 como sustitutos de SAO (HFC-134a, HFC-143a, HFC-125 y HFC-152 a). Nótese el rápido crecimiento de la concentración en la atmósfera.



Fuente: UNEP (2001).

2. EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV-B) SOBRE LA EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DE PLANTAS C4 USANDO COMO MODELO *Zea mays*

2.1 INTRODUCCIÓN

Los cambios globales en la composición química de la atmósfera han tenido como resultado una reducción en las concentraciones de ozono, dicho efecto ha conducido al incremento en la energía solar UV que llega a la superficie del planeta Tierra, presentando un impacto nocivo para el medio ambiente y diversas formas de vida; dicha cantidad de radiación UV que atraviesa la estratósfera depende de la latitud, altitud y del perfil de O₃ que se encuentre sobre el área determinada. Es así como las plantas en la región tropical están expuestas a niveles más altos de radiación UV en comparación con las zonas templadas (Sahoo, Sarkar, Singh, Kafatos, & Summers, 2005). En la región andina, debido a mayores niveles de radiación se podría presentar un impacto negativo en el desarrollo de las plantas.

Entre las investigaciones que sobre el efecto de la UV-B sobre plantas C4, se encuentran la de Barbato et al. (2000) quienes comprobaron que la radiación UV-B tiende a reducir la concentración de enzimas carboxilantes, teniendo esto un impacto negativo en la planta, ya que dichas enzimas son importantes en los procesos catalíticos de la β -carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP) en presencia de HCO₃⁻ y Mg²⁺, para producir oxaloacetato (OAA) (Chollet et al., 1996) además de ser importantes para la síntesis de proteínas, homeostasis del pH citosólico, electro neutralidad y osmolaridad (Echeverría et al., 2010). Guruprasad et al. (2007); Kataria y Guruprasad (2012) también comprobaron otros daños causados por la UV-B a nivel de características morfológicas, fisiológicas, componentes bioquímicos y moleculares.

A pesar de los diversos daños que puede causar la UV-B en la planta, parece que el aparato fotosintético es uno de los blancos de fotodaño de dicha radiación ya que se ha observado que reduce la eficiencia en el transporte de electrones (Pfunde, Pan, & Dilley,

1991), disminuye la fijación de CO₂ y la producción de O₂ (Kakani, Reddy, Zhao & Sailaja 2003b; Allen, Mckee, Farage, & Baker, 1997).

Por otra parte, teniendo en cuenta las características anatómicas-fisiológicas propias de plantas con metabolismo C₄ se puede afirmar que estas son más resistentes a diversos factores ambientales comparadas con las C₃, ya que entre otras cosas, las C₄ minimizan el proceso de fotorrespiración y presentan tilacoides pobres en fotosistema II (PSII es blanco de fotodaño de la radiación UV-B) al ser los cloroplastos de las células que rodean el haz vascular carentes de granas (Principalmente las de tipo NAD-ME).

Sin embargo, pese a los diferentes mecanismos fisiológicos de adaptación las plantas C₄, surgen inquietudes por saber hasta qué punto pueden llevar a cabo sus especializaciones bioquímicas para contrarrestar los efectos nocivos de un ambiente cambiante, efectos como los que pueden surgir al exponerse a niveles de radiación mayores como lo es la UV-B.

El presente capítulo muestra las respuestas de plantas de maíz (*Zea mays*) como modelo C₄ sometidas a radiación ultravioleta B (UV-B) durante periodos de 6 horas diarias por 20 días, comparadas con plantas testigo las cuales estuvieron en condiciones de luminosidad ambiente.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Efecto sobre aspectos ultraestructurales de la planta

2.2.1.1 Efecto sobre el aparato fotosintético. Las plantas C4, presentan ciertas características fotosintéticas propias de su adaptación a ambientes con temperatura y radiación elevadas, por ejemplo, plantas C4 de tipo NADP-ME presentan cloroplastos con pilas agranales lo que las hace carentes de PSII (que se encuentran en una mayor concentración en las granas) siendo este fotosistema blanco de foto daño inducido por la radiación de tipo ultravioleta. De igual manera, investigaciones anteriores han comprobado que aunque las otras especies C4 como las NAD-ME y PEP-Ka responden de manera distinta a los cambios en la intensidad de la radiación UV-B, ésta trae consecuencias desfavorables para el buen funcionamiento de su aparato fotosintético.

Aunque los primeros estudios al respecto concluían que las plantas C4 especialmente plantas de maíz eran tolerantes a UV-B como lo afirmaron Ambasht y Agrawal (1995) al no encontrar efectos nocivos de la radiación UV-B sobre la capacidad fotosintética ni cambios producidos a nivel de los pigmentos fotosintéticos, más adelante Pal, Sharma, Abrol y Sengupta (1997) y posteriormente Kataria y Guruprasad (2012) en estudios con la misma planta, demostraron que al disminuir su exposición a UV-B, éstas presentaban un mayor rendimiento en la fotosíntesis neta (Ganancia real de carbono por la planta) ya que la UV-B influye en cambios a nivel de la cadena transportadora de electrones, en el proceso de fotofosforilación y/o asimilación de carbono. Además, Correia et al. (1999) comprobaron que las plantas de maíz sometidas a UV-B, disminuyeron un 57% el rendimiento en la fotosíntesis neta, fenómeno atribuido a una disminución en la densidad estomática; años más tarde, Kataria et al. (2013) evidenciaron consecuencias similares en plantas de sorgo y amarantos las cuales además mostraron reducción en el crecimiento, en la acumulación de biomasa y la conductancia estomática.

Estudios más actuales como el realizado por Kataria & Guruprasad (2014) sobre el efecto de la UV-B sobre la cadena transportadora de electrones, comprueban que tras la exposición a UV-B, plantas del género *Amaranthus* (Tipo NAD-ME) presentan un bajo rendimiento en PSII al verse alterada toda la cadena de transporte de electrones desde el lado de los donantes del PSII hasta el PSI, disminuyendo así el contenido de NADPH y ATP, esto según citan los autores ocasiona una limitación de la RuBP o la regeneración

de la enzima PEP (Onoda et al., 2005 citado por Kataria & Guruprasad, 2014) y, por tanto, puede reducirse la tasa de asimilación de CO₂. Con lo anterior queda comprobada la acción dañina de la UV-B sobre el aparato fotosintético de las plantas C4 pese a la tolerancia que poseen frente a diversos factores ambientales, siendo importante realizar más estudios que permitan comprender las respuestas fisiológicas de las mismas frente a cambios en factores ambientales de este tipo.

2.2.1.2 Efecto sobre los pigmentos fotosintéticos. Los pigmentos fotosintéticos son la base fundamental de la fotosíntesis en las plantas, ya que son éstos los que reciben la energía lumínica en forma de fotones y tras la excitación de algunos de sus electrones, inician una cadena de transporte electrónico cuya función es producir ATP, NADPH y oxígeno (como residuo). Teniendo en cuenta el papel que desempeñan estos compuestos en la planta, el estudio frente a daños que puede provocar la UV-B en éstos es de vital importancia.

Así Correia et al. (1999) en experimentos con maíz determinaron que la radiación UV-B disminuye hasta en un 34% el contenido total de carotenoides y además comprobaron que la clorofila *a* se ve más afectada que la clorofila *b* pues se disminuye en mayor medida. Barsig y Malz (2000) sólo evidenciaron impactos negativos sobre la clorofila *b* en plantas de maíz dulce; según estos autores, “ocurre un efecto dañino leve sobre los dominios de recolección de luz, encontrando que la clorofila *a* y el β -caroteno parece ser más estables contra el estrés UV-B”.

Por otra parte se ha demostrado en plantas de *Zea Mays* Correia et al. (1999), *Sorghum spp* (Kataria & Guruprasad, 2012), *Amaranthus tricolor* (Kataria & Guruprasad, 2014), que al excluir las plantas de la radiación UV-B haciendo uso de filtros, estas presentan incrementos en las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos.

Tabla 4. Cambios ocurridos a nivel de los pigmentos fotosintéticos causados por la radiación ultravioleta B (UV-B) en algunas plantas C4.

Planta	Especie C4	Clorofila a	Clorofila b	Carotenos	Autores
<i>Artemisia annua L</i>	NAD-ME	Se reduce 17.3% al exponer a UV-B	Se reduce 25.8% al exponer a UV-B	Aumentan 44% con la exclusión de UV-B	Rai et al. (2011).
<i>Amaranthus tricolor</i>		Mayor proporción de clorofila b que clorofila a, al excluir UV-B		Aumentan 22% con la exclusión de UV.B	Kataria y Guruprasad (2014).
<i>Zea mays L.</i>	NADP-ME	Clorofila a disminuyó en mayor medida que la clorofila b		Disminuye un 34% con la exclusión UV-B	Correia y Areal (1999).
<i>Sorghum spp</i>		Clorofila b aumenta en mayor proporción que la clorofila a, con la exclusión UV-B.		Aumentan significativamente con la exclusión UV-B.	Kataria y Guruprasad (2012).

Ambasht y Agrawal (1995) analizaron la respuesta de los pigmentos fotosintéticos en plantas de Maíz sometidas a radiación UV-B evidenciando que se aumentaba la concentración de la clorofila durante los 20 y 60 días de crecimiento en comparación con su control y presentando una notable reducción a los 40 días. También analizaron pigmentos de tipo antocianinas y comprobaron su elevada concentración al día 20 con una posterior reducción hasta los 60 días.

Rai et al. (2011) explican que la reducción en los niveles de clorofila observados al exponer las plantas a radiación UV-B puede atribuirse a la inhibición de la biosíntesis de la clorofila, la degradación del pigmento o de sus precursores como protoclorofila y protoclorofilida; es importante considerar que la clorofila puede ser más sensible al foto

daño debido principalmente a su estructura y función como principal captadora de luz en la membrana del tilacoide; por el contrario, el incremento de los carotenoides puede deberse a la resistencia que oponen contra las ROS (especies reactivas de oxígeno) disminuyendo así el estrés causado por la luz UV-B (Kataria & Guruprasad, 2014), lo anterior puede determinarse como un mecanismo de protección de las plantas frente a la radiación ultravioleta, si se tiene en cuenta que los carotenoides actúan como moléculas capaces de disipar la energía de excitación excedente en forma de calor (Manrique, 2003); (Joshi et al., 2007).

2.2.1.3 Efecto sobre flavonoides. Los flavonoides son derivados fenólicos que absorben en la región UV-B con un máximo de absorción a 300 nm, se les atribuye acción protectora frente la radiación UV-B ya que según Caldwell, Robberecht y Flint (1983) “los flavonoides reducen el efecto deletéreo de la luz UV-B sobre los distintos componentes celulares”. Además, Wang, Gorsuch y Hughes (1997) afirman que hasta un 95% de la radiación UV-B puede ser interceptada por los flavonoides. Así mismo, un estudio realizado por Jiayang et al. (1993), comprueba que la radiación UV-B induce una mayor síntesis de flavonoides como mecanismo de defensa, acumulando uno o más intermedios de la vía de flavonoides, además de desarrollar otro tipo de compuestos de protección conocidos como ácidos sinápticos.

Algunos estudios datan de flavonoides específicos que cumplen dicha función protectora, es el caso de la investigación realizada por Tevini (1991) citado por Teramura y Sullivan (1994) quienes afirman que la UV-B induce aumentos a nivel del ARNm y la actividad enzimática sintasa de chalconas y fenilalanina amonio liasa (CHS y PAL) las cuales están encargadas en la síntesis de flavonoides.

Estudios más recientes, concluyen que el mecanismo de protección de los flavonoides frente a la UV-B se debe a la sobreexpresión de distintos genes que participan en la síntesis de los fenilpropanoides (Carrasco-Ríos, 2009). Investigaciones específicas en plantas C4 comprobaron que las plantas de maíz presentan tolerancia con respecto a condiciones de estrés y entre las razones que lo ameritan se encuentra la acción

protectora de flavonoides y nó solo en las hojas sino además en el polen de la planta como lo demostraron Krupa y Kickert (1993) citado por Santos, Almeida, Santos y Salema (1998) y a nivel del material genético, como lo demostraron Stapleton & Walbot (1994) quienes en su investigación con plantas de maíz comprobaron que flavonoides especialmente de tipo antocianinas protegieron el ADN, ya que según ellos, éstas tienen la capacidad de filtrar luz necesaria para la actividad fotoliasa la cual es indispensable para este mecanismo de protección.

2.2.2 Efecto sobre aspectos estructurales de la planta

2.2.2.1 Efecto sobre la longitud de la planta. La radiación ultravioleta UV-B es causa de distintas complicaciones fisiológicas en la planta que se evidencian a nivel estructural: alteraciones en crecimiento, longitud, peso, desarrollo, área foliar, despigmentación, etc. En este sentido, con respecto a la longitud, Pal, Sharma, Abrol, y Sengupta (1997) evidenciaron que al excluir plantas de maíz de la radiación UV-B estas presentan un pequeño aumento en la altura (entre 4-10%), sin embargo observaron una disminución en el área foliar en todos los estados de crecimiento; por su parte Quaggiotti, Trentin, Dalla Vecchia y Ghisi (2004) observaron cambios a nivel de la longitud del tallo; Yin y Wang (2012) evidencian que la UV-B afecta notoriamente el rendimiento y crecimiento de plantas de maíz, especialmente la altura de la planta, reduciendo hasta un 9% su desarrollo normal y Mark, Saile-Mark y Tevini (1996) también realizaron estudios en plantas de maíz las cuales mostraron significativa reducción en todas las etapas de crecimiento con respecto a la altura al exponerse a UV-B. No obstante, Barsig y Malz (2000) no observaron cambios morfológicos en la planta ni de coloración, ni longitud después de ser irradiadas con luz UV-B, sin embargo, se debe tener en cuenta que todas las investigaciones presentan diferencias metodológicas como intensidad de radiación, variedad de planta y condiciones de radiación ambiental de la zona.

El comportamiento a nivel de la longitud de la planta como respuesta a la UV-B observado en diversas investigaciones, puede explicarse con lo reportado en la investigación de Correia, Coutinho, Bjorn, & Torres-Pereira (2000) y la de Ros y Tevini

(1995) citado por Yin y Wang (2012) quienes afirman que una reducción en la altura de la planta se debe a la destrucción fotooxidativa de una fitohormona, el ácido indol acético, además de la reducción de la extensibilidad de la pared celular.

La mayoría de estudios realizados en plantas C4 utilizan como modelo la planta de maíz, debido probablemente a su fácil propagación, cantidad de biomasa que puede obtenerse para estudio y a su fácil manejo en laboratorio y campo.

2.2.2.2 Efecto sobre los estomas. Los estomas cumplen una función vital en la planta ya que de ellos depende el intercambio gaseoso entre la misma y su medio exterior, por ende, se debe conservar un estado de equilibrio entre dicho intercambio para que no se vean alterados los procesos bioquímicos y así poder regular la ganancia de carbono. Sin embargo, existen cambios a nivel atmosférico que pueden alterar dicho equilibrio como por ejemplo el incremento en la presión parcial del CO₂ del medio, humedad relativa, temperatura y el aumento en la intensidad de luz (Hetherington & Woodward, 2003), de este modo, el estado de los estomas se puede evaluar teniendo en cuenta cambios a nivel del índice estomático, conductancia estomática y densidad estomática, entre otros. Según Schoch et al. (1980) citado por Reyes-López et al. (2015) el índice estomático es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que se experimentan durante los días precedentes a la diferenciación de los estomas de la hoja, por lo cual es de esperarse que aumentos en los niveles de energía lumínica proveniente del sol puedan alterar el índice estomático, llevando a perjudicar procesos bioquímicos secundarios que dependen del equilibrio fisiológico de éstos.

Se ha encontrado pocos estudios referentes al efecto de la UV-B sobre la condición de los estomas de plantas C4, entre esos Ambasht y Agrawal (1995) quienes reportaron en plantas de maíz que la conductancia estomática es mayor en plantas sometidas a radiación UV-B comparadas con las testigo, llegando a un punto límite a los 40 días de edad, tiempo en el cual se comienza a ver una reducción del 6.4%. Por su parte Correia et al. (1999) demostraron en plantas de maíz que la UV-B induce un aumento en la resistencia estomática, esto lo comprobaron al verse disminuida la tasa de transpiración.

Finalmente Kataria et al. (2013) comprobaron que al excluir plantas de sorgo y amarantos de UV-B estas se mejoran la conductancia estomática, lo cual resultó en una reducción de la fotosíntesis neta.

De acuerdo a lo anterior, son pocos los antecedentes referentes al efecto directo de la radiación UV-B sobre la condición de los estomas exclusiva en plantas C4 ya sea sobre su índice, conductancia o densidad, ya que la mayoría de investigaciones profundizan sobre el efecto de la temperatura y mayores concentraciones de CO₂ atmosférico (Sánchez, Larqué, Nava & Trejo, 2000), efecto del potasio sobre la conductancia estomática en especies C4 como *Amaranthus hypochondriacus* L (San Miguel-Chávez, Hernández-Sequera, Rosas-Calleja, Trinidad-Santos, & Larqué-Saavedra, 1998) o por otra parte profundizan en plantas C3 como arroz (Daig, Peng, Chávez & Vergara, 1995); pimienta (Hosseini, Carapetian, & Khara, 2001); algodón (Kakani et al., 2003a), entre otros.

2.2.2.3 Efecto sobre la Biomasa. Si bien es cierto la radiación UV-B genera respuestas a nivel estructural como reducción en la longitud de la planta, disminución del área foliar, pérdida de crecimiento de la raíz, entre otros, esto puede influir indirectamente en cambios en la acumulación de biomasa, así lo afirman Zuk, Upadhyaya y Golaszewski (2003) en *Setaria viridis* (C4 Tipo NADP-málico (Burtneil et al., 2010) lo cual relacionan con la disminución en el área foliar y reducción en la altura de la planta sometida a exposición con UV-B, disminución a nivel de la masa fresca de hojas, brotes y raíces, así como el área foliar. Así mismo Mark, Saile-Mark y Tevini (1996) demostraron en plantas de maíz que la exposición a UV-B conlleva a una reducción en el peso seco y fresco, así como también en el área foliar de la planta, indicando un retraso en el desarrollo.

Sin embargo, estudios realizados también en plantas de maíz por Ambasht y Agrawal (1995) reportan de manera contraria que esta planta es resistente a la radiación UV-B, ya que encontraron un aumento en la acumulación de biomasa de un 4.2, 9.0 y 7.2%, respectivamente, en 20, 40 y 60 días. De la misma manera, Cybulski III & Peterjohn

(1999) determinaron que la radiación UV-B no afectó la biomasa de tres especies de gramíneas con metabolismo C4 *Echinochloa crusgalli*, *Setaria faberi*, *Elymus virginicus*, Asi mismo, Quaggiotti et al. (2004) no evidenciaron cambios a nivel de peso seco entre plantas tratadas con radiación UV-B y sus controles.

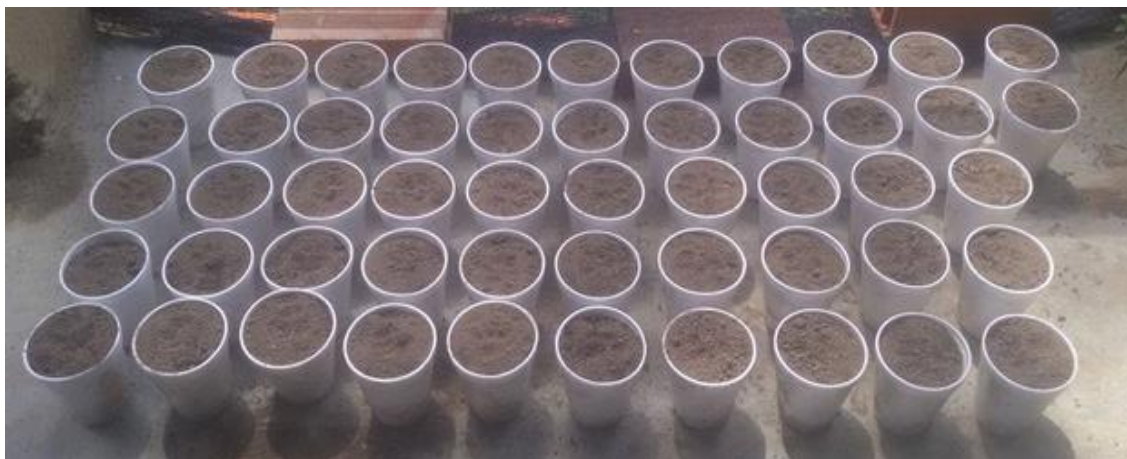
Teniendo en cuenta la contraposición de las investigaciones con respecto a las plantas de maíz en cuanto a su resistencia o no frente a la radiación UV-B es importante tener en cuenta la variedad de la planta, los factores ambientales del lugar donde se realizó la investigación (cultivo de plantas) y las técnicas y metodologías empleadas en laboratorio, como por ejemplo, tiempo de exposición a UV-B, intensidad de radiación, para poder así establecer comparaciones de este tipo.

2.3 METODOLOGÍA

2.3.1 Cultivo de plantas y tratamiento: Semillas de maíz variedad ICA V-109 se sembraron, durante el mes de abril de 2016 en condiciones de temperatura de aproximadamente 30-35°C, en macetas de icopor de 750 mL de volumen, con un sustrato de tipo Franco Arcilloso formado por suelo y abono orgánico (Figura 15); el sustrato se encontraba en condiciones de pH adecuado (6,4), un porcentaje de 1.5% de Materia Orgánica, con una C.I.C (Capacidad de intercambio catiónico) de 21 meq/100g y una concentración de elementos mayores de 44 mg/kg de P; 5.2 meq/100g de Ca; 3.1 meq/100g de Mg; 0.2 meq/100g de Na y 0.51 meq/100g de K, entre otros (Anexo 1).

Después de 15 días de su germinación grupos de plantas fueron sometidas a radiación ultravioleta B (UV-B) haciendo uso de lámparas Philips Narrowband TL100W/01 durante 6 horas diarias (7am a 1pm), las plantas testigo se mantuvieron en condiciones normales de fotoperiodo aproximadamente de 12 h. Se realizaron muestreos cada 4 días por un periodo de 20 días y todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Figura 15. Cultivo de plantas de maíz en sus respectivas macetas.



Fuente: Autores

2.3.2 Aspectos Ultraestructurales:

2.3.2.1 Fotosíntesis en plantas C4. Transporte de electrones en el aparato fotosintético:

2.3.2.1.1 Reacción de Hills: La reacción de Hill, consiste en utilizar un aceptor artificial de electrones, el DCPIP (2,6 diclorofenolindofenol) para observar el efecto de la radiación sobre el transporte electrónico fotosintético.

El DCPIP en estado oxidado, presenta coloración azul, mientras que reducido no tiene color. Las moléculas del colorante interceptan dos electrones en la cadena fotosintética, por lo que la pérdida del color demuestra que el flujo de electrones está ocurriendo durante las reacciones dependientes de la luz. Esta pérdida de color es proporcional al flujo de electrones y puede ser cuantificada en un espectrofotómetro.

Se replicó la metodología utilizada por Toledo, Camero, Durán, Villamizar & Contreras (2012) con algunas modificaciones, teniendo en cuenta lo siguiente:

- **Aislamiento de cloroplastos:** Se pesaron 5 gr de hojas frescas, se cortan en pedazos excluyendo tallos y venas. Se procedió a macerar en un mortero enfriado previamente (se usó hielo durante todo el proceso) se homogeneizó durante 2

minutos con 5 ml de tampón fosfato a pH 6.5. Se Filtró el homogenizado. El filtrado se dispuso en dos tubos y se procedió a centrifugar por 5 minutos a 5000 rpm, se descartó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió con 5 ml de tampón frío y se centrifugó nuevamente bajo las mismas condiciones. Una vez más se descartó el sobrenadante y el precipitado se lavó una vez más con 5 ml de tampón para centrifugar posteriormente la suspensión. Finalmente se descartó el sobrenadante y se resuspendió el precipitado en 2.5 ml de tampón fosfato 50 mM pH 6.5.

- Observación de cloroplastos: La observación de cloroplastos al microscopio, garantiza la eficacia del procedimiento anterior. La ausencia de ellos indicaría que al centrifugar no precipitaron por lo cual se hace necesario centrifugar por más tiempo. Para la observación de los cloroplastos se siguió el siguiente procedimiento:
 - Se tomó una gota de suspensión de cloroplastos y se dispuso sobre un portaobjeto, se cubrió con un cubreobjetos. Posteriormente se enfocó el microscopio a 40X. Finalmente se agregó una gota de aceite de inmersión para observar en 100X los cloroplastos.
- Concentración de cloroplastos: Se determinó la concentración de cloroplastos mediante el conteo en Cámara de Neubauer, tomando 0.1 μL de suspensión de cloroplastos y se realizó conteo en un microscopio de luz binocular, utilizando una Cámara de Neubauer. Los resultados fueron expresados como número total de cloroplastos aislados por mililitro de medio. El volumen de la muestra se estableció bajo las condiciones de trabajo, ya que no se encontraron protocolos, estudios o reportes anteriores de conteo de cloroplastos por este medio, teniendo que estandarizar la metodología.
- Actividad fotosintética de cloroplastos: Bajo luz de laboratorio débil, y cubriendo los tubos de ensayo con papel aluminio, se pipeteó cada uno de los componentes, siguiendo el orden de la tabla 5, añadiendo en último lugar la suspensión de cloroplastos a cada tubo, el tubo 3 contiene suspensión de cloroplastos previamente hervidos.

Una vez agregados todos los componentes a cada tubo, se mezcló por inversión y se procedió a eliminar el papel, se dispusieron en una gradilla y se iluminaron durante 5 minutos con una lámpara a una distancia de 20 cm. Pasado el tiempo se filtró cada una de las muestras y se transfirieron a una celda espectrofotométrica procediendo a la lectura en UV-VIS a 620 nm frente a un blanco con agua.

Tabla 5. Reacción de Hill.

	N° de Tubo		
	1	2	3
Tampón fosfato	5 mL	5 mL	5 mL
2,6 DCPIP	-	5 mL	5 mL
H₂O	5 mL	-	-
Cloroplastos	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL (Hervidos)
Iluminación (5 min)	Sí	Sí	NO

2.3.2.1.2 Evaluación de la presencia y concentración de pigmentos:

2.3.2.1.2.1 Extracción de pigmentos: Los métodos de extracción permiten obtener el extracto de los pigmentos como flavonoides y clorofila a y b. En este estudio se implementó la metodología propuesta por Sumanta, Haque, Nishika y Suprakash (2014) con algunas modificaciones. Se realizaron dos extracciones utilizando como disolvente etanol y acetona grado analítico, para la extracción de flavonoides y clorofilas respectivamente. Se pesaron 0.5 gr de hojas frescas trituradas de plantas de *Zea mays* y se le aplicó 5 ml del disolvente para cada caso. Se procedió a macerar y el producto se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos. Terminada la centrifugación se obtuvo un sobrenadante que contenía los pigmentos. Los pigmentos se almacenaron en tubos de ensayo con tapa rosca a 4°C.

2.3.2.1.2.2 Medición de los espectros de absorción: La espectroscopia juega un papel fundamental para determinar si un cambio en la radiación genera variaciones en la eficiencia de absorción de energía por parte de los pigmentos. Se tomaron 0.5 ml del sobrenadante obtenido con anterioridad y se diluye hasta 5 ml con el disolvente para

cada caso, al extracto etanólico se le realizó un barrido de longitud de onda entre 200 y 380 nm, y al extracto acetónico se le realizó un barrido de longitud de onda entre 400 y 720 nm.

2.3.2.1.2.3 Concentración de pigmentos fotosintéticos: La determinación de pigmentos mediante ecuaciones matemáticas depende del solvente orgánico utilizado en la extracción (Moran 1982). De esta manera, para obtener la concentración de pigmentos fotosintéticos se tuvo en cuenta la ecuación formulada por Val, Heras y Mongue (1985) teniendo en cuentas las absorbancias obtenidas en el extracto acetónico:

$$Cl\ a\ (\mu g. mL^{-1}) = 10.81\ Abs_{662} - 0.75\ Abs_{645}$$

$$Cl\ b\ (\mu g. mL^{-1}) = 19.02\ Abs_{645} - 3.98\ Abs_{662}$$

$$Cl\ t\ \mu g. mL^{-1}) = 6.83\ Abs_{662} + 18.27\ Abs_{645}$$

2.3.3 Aspectos estructurales:

2.3.3.1 Estado de los estomas. Se tomaron medidas de conductancia estomática, densidad estomática e índice estomático. Para su determinación se realizaron cortes longitudinales del envés de las hojas de *Zea mays L* procurando realizar el corte en la misma parte de la hoja en cada muestreo, y se visualizaron en un microscopio de contraste de fases MOTIC BA31OE a un aumento de 40X. Para la obtención de las imágenes se hizo uso de una cámara Moticom de 10.0 MP.

Estableciendo una relación entre la variación del tamaño de los estomas y la apertura estomática (conductancia estomática) se examinaron modificaciones en los rasgos de los estomas midiendo el largo (LE) y ancho (AE) de los mismos en un analizador de imágenes Motic Images Plus ML 2.0.

Por otra parte, se determinó el índice estomático, a través de la ecuación sugerida por Wilkinson (1979):

$$IE = (NE*100) / (CE+NE)$$

Donde: **IE**: Índice estomático, **NE**: Número de estomas por campo de observación (Densidad estomática), **CE**: Número de células epidérmicas en el campo de observación.

2.3.3.2 Longitud de la planta: Se tomaron medidas cada 4 días de la longitud total de la planta desde el extremo de la raíz hasta la punta de la hoja más larga, haciendo uso de una regla graduada de 30 cm. Se cuidó que las raíces no se separaran de la base del tallo a la hora de extraerlas de las materas para la medición, éstas se lavaron y se secaron a temperatura ambiente.

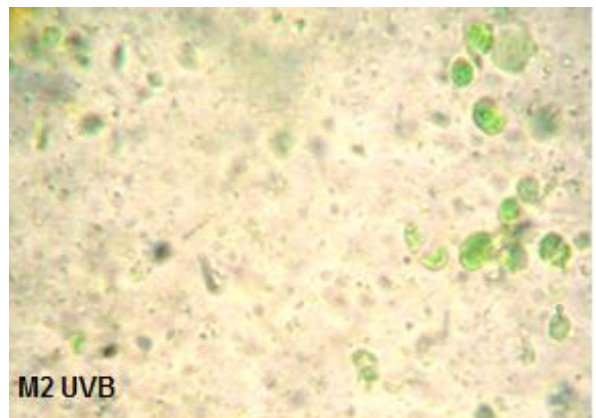
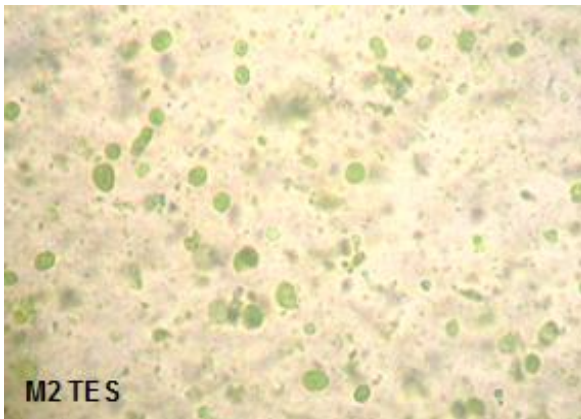
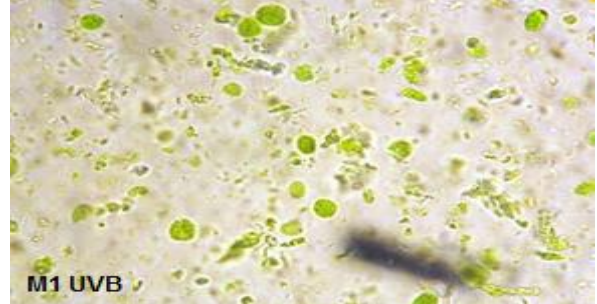
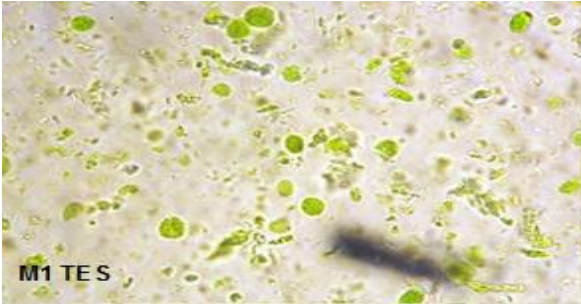
2.3.3.3 Biomasa: La producción de biomasa en plantas de maíz depende de la cantidad de radiación fotosintéticamente activa interceptada. Se tomaron medidas de peso fresco para hojas, tallo y raíz haciendo uso de una balanza analítica. Para las medidas de peso de las raíces, éstas se lavaron y se secaron a temperatura ambiente. Para la determinación del peso seco, las muestras fueron introducidas en una estufa a 70°C por un periodo de 5 horas para su posterior gramaje.

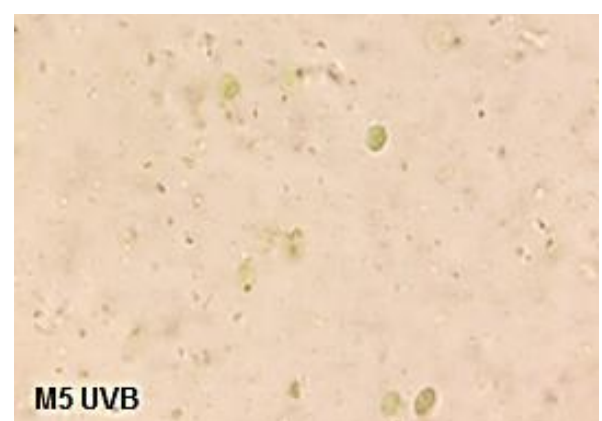
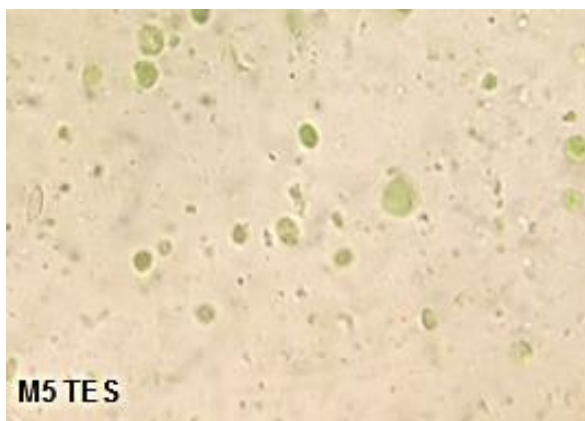
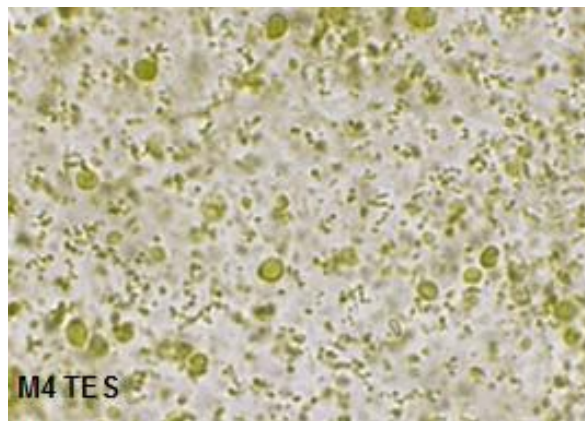
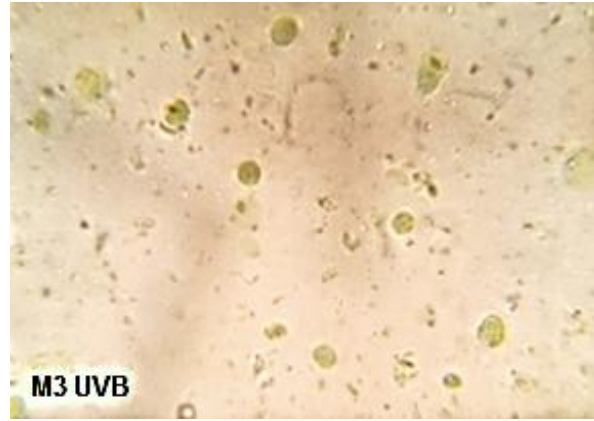
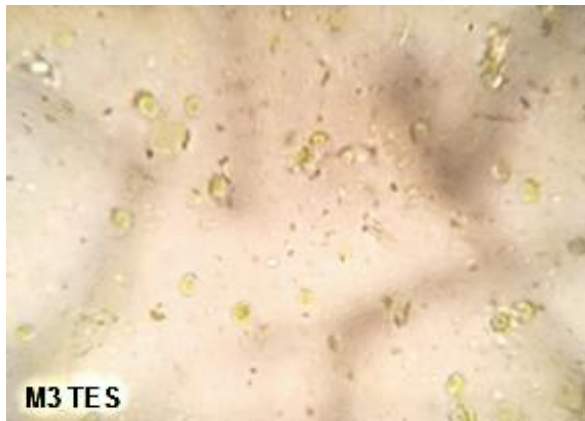
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

2.4.1 Aspectos Ultraestructurales:

2.4.1.1 Observación de cloroplastos: En la figura 16 se puede observar la presencia de cloroplastos en solución. Comparando las imágenes de plantas control con irradiadas, se evidencia que a medida que pasan los muestreos se presenta una mayor cantidad de cloroplastos en plantas control, indicando una adecuada ontogenia de la planta, todo lo contrario ocurre en plantas irradiadas, principalmente en el muestreo 5. En el muestreo 2 y 3 se observa que los cloroplastos de plantas irradiadas presentan un mayor tamaño comparado con plantas control, lo cual puede ser un indicio de que la planta aumenta el tamaño de cloroplastos como un probable mecanismo de respuesta y defensa para contrarrestar los efectos nocivos de la radiación UV-B.

Figura 16. Imágenes de cloroplastos aislados de plantas de maíz sometidas a radiación ultravioleta B y sus controles. Las imágenes fueron obtenidas a partir de una cámara Moticom de 10.0 MP, adaptada a un microscopio de contraste de fases MOTIC BA310E a un aumento de 40X. TES (Control), UV-B (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).





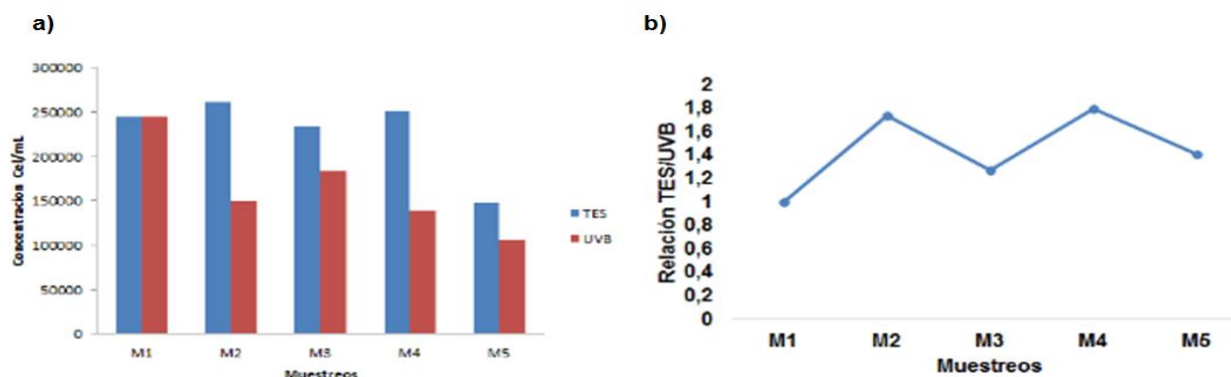
Fuente: Autor

2.4.1.2 Concentración de cloroplastos: En la figura 17a se puede apreciar cualitativamente que en plantas control la concentración de cloroplastos tiende a ser constante en cada muestreo a excepción del muestreo 5, el cual presenta una disminución en la concentración de cloroplastos del 41% comparado con el muestreo 4, esto puede estar asociado al efecto de la radiación solar la cual se incrementó en la región durante la fecha de muestreo (IDEAM, 2016).

Con respecto a las plantas irradiadas con UV-B, se observa una tendencia a disminuir la concentración de cloroplastos a medida que pasan los días de exposición a la radiación. Una vez las plantas se someten al tratamiento, experimentan niveles de estrés, reflejado en una reducción de un 38.65% para el muestreo 2 (tras 4 días de exposición a la radiación) con excepción del muestreo 3, donde se observó un incremento en la concentración de estos, posiblemente como un mecanismo de defensa de la planta para contrarrestar los efectos de la radiación. En los muestreos posteriores se presenta una disminución en la concentración de cloroplastos, que se agudiza en el muestreo 5 por los efectos de la radiación solar de la región, como se mencionó anteriormente.

Por otra parte, en la relación presentada en la figura 17b se evidencia que aunque la concentración de cloroplastos es variable a lo largo de los muestreos, a nivel general las plantas control presentan una mayor concentración de cloroplastos con respecto a las irradiadas, esto concuerda con lo expresado por Santos, Almeida, Santos & Salema (1998) quienes afirman que diferentes niveles de radiación UV-B provocan una disminución en el número de cloroplastos en hojas de maíz, lo que puede deberse a daños en la epidermis adaxial en la zona distal de las hojas como lo comprobaron Fagerberg y Bornman (1997), estos autores además evidencian cambios en el volumen interno de los cloroplastos de plantas irradiadas.

Figura 17. Efecto de la radiación UV-B sobre la concentración de cloroplastos. **(a)** Concentración de cloroplastos (Número de células/mL de solución) presentes en la suspensión obtenida a partir de hojas de maíz de plantas tratadas con UV-B y sus respectivos controles para cada muestreo. **(b)** Relación entre la concentración de cloroplastos presentes en muestras de plantas irradiadas y sus controles. M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

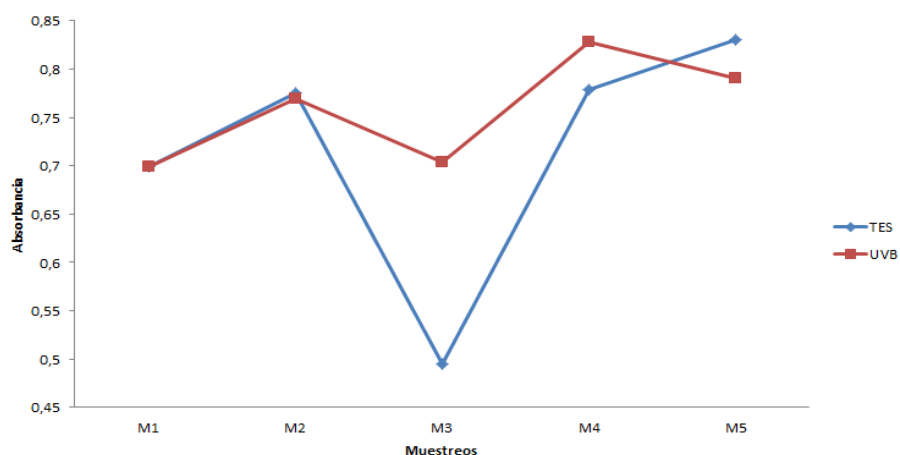
En la presente investigación se tiene como resultado una disminución de la concentración de los cloroplastos inducida por la radiación UV-B, de igual manera otros autores reportan cambios cualitativos en los mismos como resultado de la radiación, entre los que se encuentra la disminución de pigmentos en los cloroplastos (Salama, Watban & Al-Fughom, 2011) y cambios en el volumen de cloroplastos (Fagerberg & Bornman, 1997) y (Fagerberg, 2007).

2.4.1.3 Actividad de la cadena transportadora de electrones. Reacción de Hills. Permite establecer la eficiencia de la cadena transportadora de electrones (CTe^-) en cloroplastos aislados, mediante la decoloración del DCPIP, entendiéndose que a menor intensidad del color, mayor reducción del aceptor artificial de electrones y mayor eficiencia en la cadena transportadora de electrones.

Tras 4 días de exposición a la radiación, se observa un comportamiento similar para plantas irradiadas y los controles en el funcionamiento de la CTe^- . Sin embargo, en el muestreo 3 y 4, la cadena transportadora de electrones de plantas irradiadas presenta una menor velocidad de reducción de aceptor artificial de electrones indicando un estado de estrés, dicha respuesta se ve más marcada en el muestreo 3 con una absorbancia de 0.704 comparado con su control 0.495. Por el contrario, en el muestreo 5 se puede observar una mayor eficiencia en la capacidad de reducción del DCPIP de plantas irradiadas y aunque estas presentan mayor capacidad de reducción que su testigo, los valores son similares, lo que no nos permite establecer una diferencia entre los tratamientos. Lo que se infiere, es que para este muestreo las plantas testigo pudieron verse afectadas por mayores índices de radiación solar ambiente que los muestreos anteriores (Figura 18).

Como resultado de esta investigación se evidencia la influencia ejercida por la radiación UV-B sobre la eficiencia de la CTe^- en las plantas, teniendo en cuenta que en plantas expuestas a la radiación, el colorante 2,4 diclorofenoindofenol (DCPIP) se reduce en menor medida comparado con las plantas testigo, con lo cual se infiere que la radiación UV-B afecta el paso de electrones en la cadena transportadora, desde el centro de reacción hasta el aceptor de electrones y de esta manera podrían verse alterados los productos fotosintéticos.

Figura 18. Efecto de la radiación UV-B sobre la capacidad de reducción del aceptor final en la cadena transportadora de electrones en hojas de plantas de maíz. TES (Control), UV-B (Irradiadas con UV-B). M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

Es importante destacar que otras investigaciones han hecho uso de la metodología implementada en este trabajo para la reacción de Hills con otros fines, como determinar el efecto de herbicidas sobre el aparato fotosintético o específicamente para establecer cuál es el efecto de mayores niveles de radiación sobre plantas C3, encontrándose sólo un estudio del efecto de la UV-B en plantas C4 donde usaron como modelo plantas de sorgo y maíz, afirmando que la radiación UV-B poco afecta la reacción de Hills en estas plantas (Basiouny, Van, & Biggs, 1978).

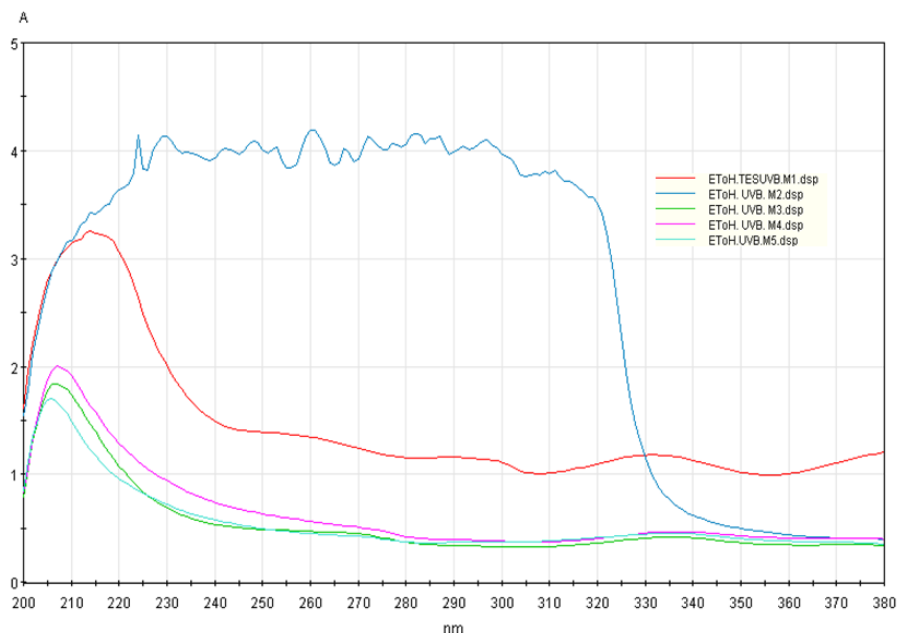
2.4.1.4 Pigmentos. Medición de espectros de absorción: Compuestos fenólicos: De acuerdo a las diferentes absorciones observadas en la figura 19, en la zona comprendida entre los 200 a 380 nm se puede inferir la presencia de flavonoides. Muchos flavonoides exhiben 2 bandas de absorción en la región del UV/vis; la banda I aparece en un rango de los 300 a 385 nm y es representativa del anillo A de estos compuestos, y la banda II correspondiente al anillo B aparece entre los 225 y 285 nm (Lock, 1988); sin embargo, cada flavonoide se caracteriza por poseer un espectro UV característico.

Según Pastor de Abram y Zelada (2006) las especies C₄ acumulan flavonoides mono a tetrasulfatados del tipo isoramnetina y quercetina o kaempferol sulfatados.

En la figura 19 se observa que en el muestreo 2 se presenta un incremento en la absorbancia en la región de los 225 a 320 nm de las plantas irradiadas con un aumento de absorbancia de 2.67 a 4.15, lo que puede indicar el aumento en la biosíntesis de compuestos fenólicos. Tevini (1991) citado por Teramura y Sullivan (1994) mencionan que la UV-B induce aumento en la actividad enzimática sintasa de compuestos fenólicos como chalconas y la fenilalanina amonio liasa, importantes para la síntesis de flavonoides.

De acuerdo a los resultados obtenidos para el muestreo 2 es posible inferir que en la planta se manifiesta un mecanismo de defensa como respuesta a los efectos nocivos de la radiación, suponiendo la presencia de flavonoides, ya que estos son compuestos secuestradores de radicales libres como lo afirman Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón (2002) y Hofmann et al. (2000). Uno de los compuestos fenólicos de importancia antioxidante que se destaca son las chalconas, que para Patil, Mahajan, & Katti (2009), está relacionada con diversos mecanismos de acción como la captación de radicales libres, quelación de iones metálicos y su papel como sustrato para radicales libres de tipo superóxido e hidróxido, especialmente aquellas chalconas con sustituyentes hidroxilo y metilo. En la presente investigación inferimos la presencia de flavonoides o sus precursores como chalconas o flavononas, debido a que estos compuestos fenólicos comprenden rangos de absorción similares a los obtenidos. Es importante tener en cuenta que las chalconas son poco abundantes ya que se convierten en flavanonas rápidamente (Cartaya & Reynaldo, 2001).

Figura 19. Espectro de absorción de extractos etanólicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y su respectivo testigo. EtOH (Extracto etanólico), TES (Control), UV-B (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

Por otra parte, es relevante mencionar que el etanol permite extraer flavonoides glucósidos (Antocianinas, flavonas, favanonas, flavonoles, isoflavonas) así como taninos condensados y posiblemente grasas (Núñez, 2009); además, el espectro obtenido en la presente investigación concuerda con los resultados obtenidos por Delgado, Andrade & Ramirez (2015) para compuestos fenólicos. No obstante, Pinto et al. (2000) afirman que un aumento en la concentración de estos compuestos como respuesta a la radiación UV-B puede no estar relacionado directamente con un incremento en su síntesis sino que se trata posiblemente de una respuesta a la disminución en el tamaño de las células y el área foliar. Sin embargo esta investigación refuta lo establecido por estos autores, teniendo en cuenta que de ser así, se evidenciaría la respuesta de absorción observada en el muestreo 2, en todos los muestreos posteriores de plantas irradiadas ya que todas

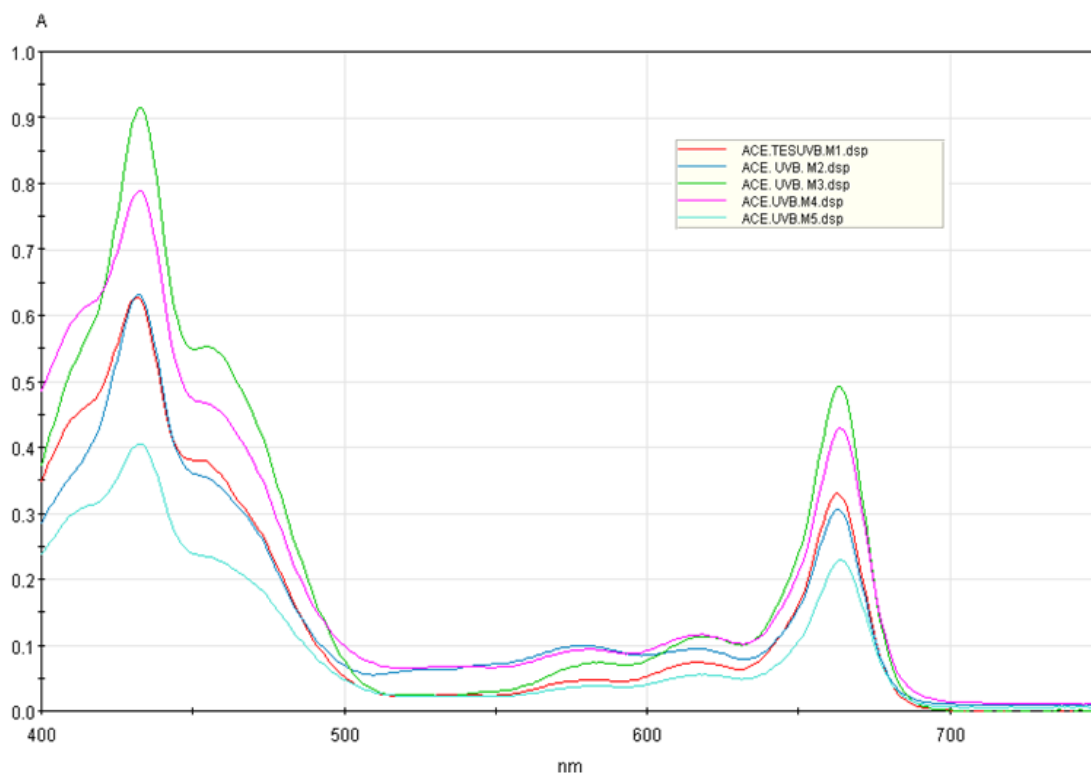
experimentan disminución en la extensión del área foliar una vez se exponen a la UV-B (Figura 24).

Por su parte, otros autores se han esforzado por entender que otros mecanismos subyacen a esta acción protectora de compuestos fenólicos, es así como Casati, Drincovich, Edwards y Andreo (1999) afirman que la UV-B induce a una mayor síntesis de la enzima NADP-ME lo cual proporciona bloques de construcción y energía para la biosíntesis de compuestos de defensa, como los flavonoides, lo que sugiere un papel del metabolismo del malato en la defensa de las plantas. Por su parte, un equipo de investigadores argentinos de la Agencia CyTA – Instituto Leloir, descubrieron en el 2011 que el óxido nítrico protege a las plantas del estrés provocado por la radiación UV-B, absorbiendo la radiación e induciendo la expresión de genes para la producción de flavonoides por medio de una proteína que denominaron 'P'. Además, algunos autores datan de la importancia del ácido ascórbico presente en el estroma de los cloroplastos como mecanismo de captación de radicales libres (Rao & Ormrod, 1995).

Sin embargo, a pesar de la acción protectora de dichos compuestos se observa un descenso progresivo en la absorbancia de los mismos para los muestreos 3, 4 y 5; lo cual pone en manifiesto el efecto dañino de la UV-B sobre la estructura de los compuestos, infiriendo que tal vez la radiación provoca daño a largo plazo de los mismos alterando la síntesis de estos compuestos de protección.

Clorofilas: A pesar que investigaciones anteriores, evidencian que plantas C4, específicamente plantas de maíz expuestas a radiación UV-B no presentaban cambios en los valores de absorbancia de los pigmentos fotosintéticos como clorofila a y b (Ambasht & Agrawal, 1995) la presente investigación encuentra resultados diferentes que evidencian que después de exponer las plantas a radiación UV-B estas experimentan cambios a nivel de la absorbancia como se muestra la figura 21. Se puede observar que para los muestreos 3 y 4, de las plantas irradiadas, la absorbancia se incrementa con un valor máximo en el muestreo 3 de 0.92 a 430 nm y 0.49 a 663 nm y en el muestreo 4 de 0.76 a 430 nm y 0.42 a 663 nm (Figura 20 y 21).

Figura 20. Espectros de absorción de extractos cetónicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y su respectivo testigo. ACE (Extracto cetónico), TES (Control), UV-B (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).

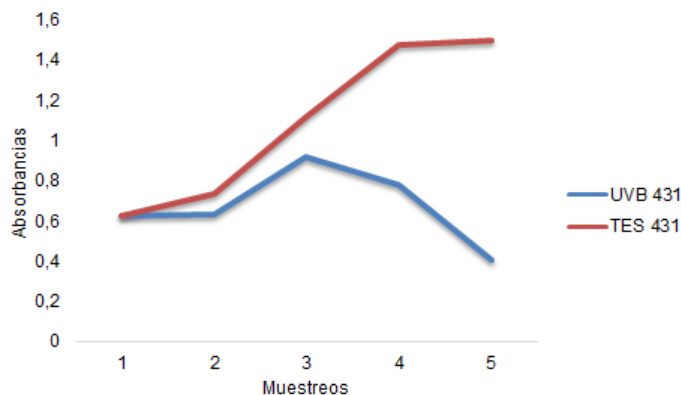


Fuente: Autor

Se infiere que este comportamiento se debe a la actividad antioxidante ejercida por compuestos fenólicos como se mencionó anteriormente (figura 19). De esta manera, pudo generarse una barrera de protección en la planta potenciando la concentración de los pigmentos, influyendo en dicha respuesta. No obstante a partir del muestreo 4, se evidencia un descenso en la concentración de los pigmentos.

Por su parte la figura 21 evidencia cómo las plantas testigo siempre permanecen en un valor de absorbancia más alto comparado con las irradiadas muestreo tras muestreo, lo que pone en manifiesto la pérdida en la concentración de la clorofila, a causa de la exposición a UV-B.

Figura 21. Relación entre las absorbancias de pigmentos fotosintéticos obtenidas para plantas de maíz expuestas a radiación UV-B y sus respectivos controles a 431 nm (absorbancia máxima). TES (Plantas control), UV-B (Plantas expuestas a radiación UV-B).



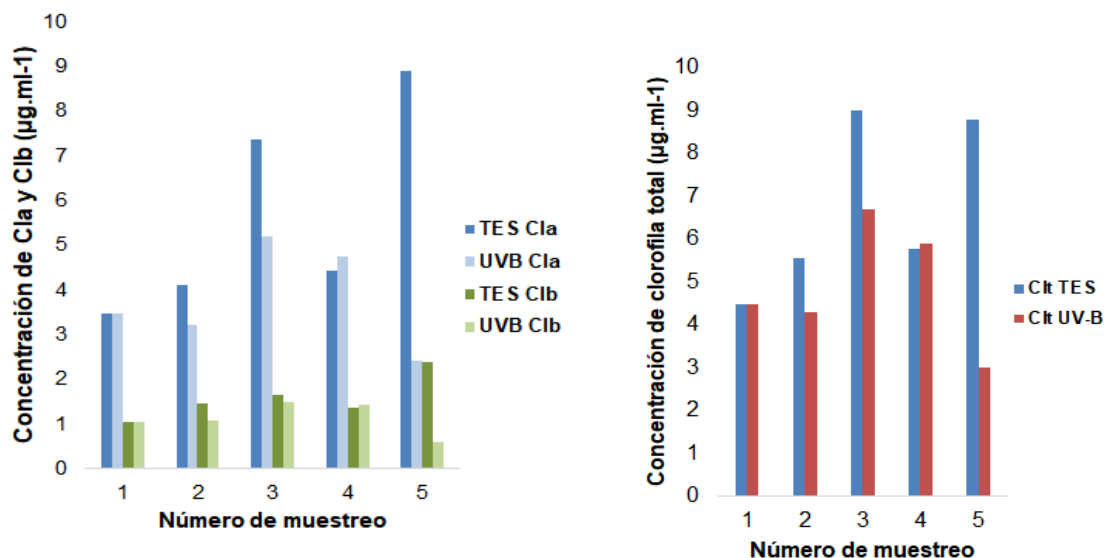
Fuente: Autor

Finalmente, el comportamiento espectral de los extractos de pigmentos evidenciado en el muestreo 5, puede explicarse con lo propuesto por Zvezdanovic y Markovic (2008) quienes afirman que la radiación UV-A y UV-B pueden causar un alto nivel de excitación en los pigmentos fotosintéticos, a tal punto que conlleva a un fenómeno denominado “oxidación fotoquímica” del radical π -catión de la molécula, dicho fenómeno provoca blanqueamiento de la clorofila atacando los dobles enlaces de la cadena fitol de la molécula conduciendo así, a la formación de numerosos fotoproductos y deterioro de la molécula.

2.4.1.5 Concentración de clorofila a y b: Si bien es cierto, los espectros de absorción de extractos cetónicos de hojas de plantas de maíz, permitieron apreciar el efecto de la radiación UV-B sobre la absorbancia de la clorofila, se determinó su concentración para evidenciar cuantitativamente el efecto de la radiación; de esta manera a nivel general se puede apreciar que plantas testigo exponen una mayor concentración de clorofila a como de clorofila b con respecto a plantas irradiadas (Figura 22a), esto también se evidencia en la concentración de clorofila total de plantas testigo con respecto a irradiadas (Figura

22b) lo cual confirma lo observado en la figura 23. Pese a que la diferencia en concentraciones no es muy intensa se manifiesta daño a causa de la radiación UV-B. Lo anterior puede indicar una disminución en la biosíntesis de la clorofila a y la degradación de sus precursores, estos resultados concuerdan a los obtenidos por Salama, Watban & Al-Fughom (2011) en plantas de desierto las cuales fueron expuestas a diferentes intensidades de radiación UV-B.

Figura 22. Efecto de la UV-B sobre la concentración de pigmentos fotosintéticos. **(a)** Concentración de clorofila a y clorofila b de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-B. **(b)** Concentración de clorofila total de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-B. TES (Control), UV-B (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



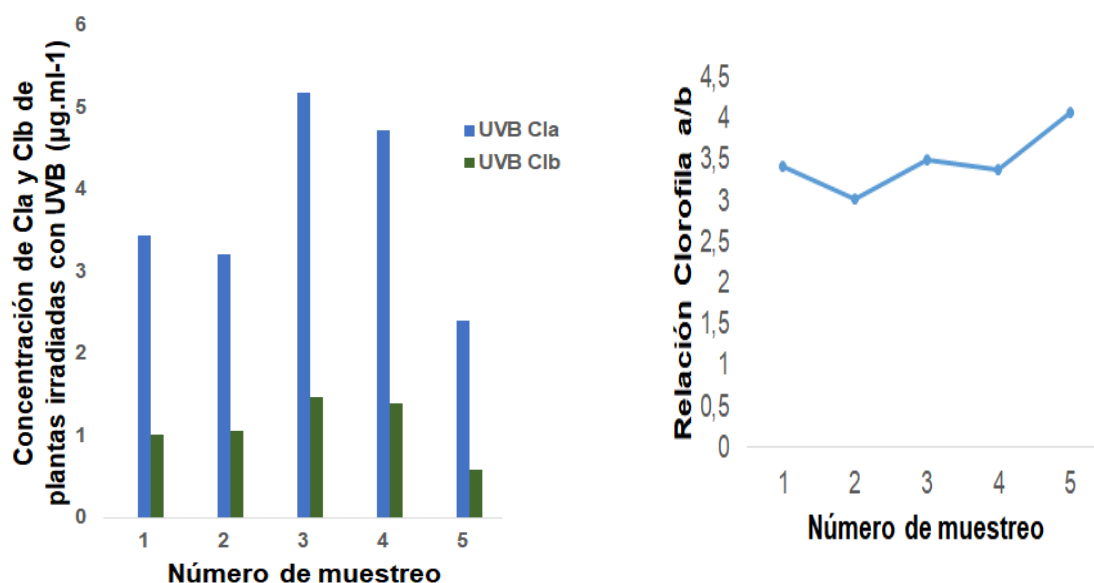
Fuente: Autor

Es importante mencionar lo ocurrido durante el muestreo 4 en la concentración de clorofila a y b de plantas testigo, ya que se evidencia una drástica disminución de las mismas, lo cual puede atribuirse a condiciones de estrés como resultado de elevados niveles de radiación solar ambiental durante esos días de muestreo como se ha mencionado en casos anteriores, que sumado a la radiación ultravioleta suministrada, afectaron las plantas en mayor medida, esto teniendo en cuenta un informe emitido por

el IDEAM (2016) que afirma que en Colombia se ha aumentado hasta un 75% los niveles de radiación solar y para ciudades como Ibagué y Cali hasta un 65% (principalmente durante el segundo trimestre del año 2016).

Autores como Barsig y Malz (2000) señalan que en plantas de maíz el contenido de clorofila a y carotenoides se mantienen con cambios muy mínimos bajo la exposición a UV-B, mientras que la clorofila b tiende a disminuir, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Figura 23. Efecto de la UV-B sobre la concentración de clorofila a y b en plantas de maíz. **(a)** Concentración de clorofila a y b en plantas bajo la influencia de radiación UV-B. **(b)** Relación clorofila a/b de plantas de maíz bajo la influencia de radiación UV-B.



El muestreo 3 evidencia de igual forma que en parámetros anteriores, la respuesta más favorable con respecto a la radiación UVB, lo cual indica como se ha mencionado previamente un efecto fitoprotector. Finalmente, en el muestreo 5 cuando las plantas ya han pasado varios días bajo el efecto de la radiación, se observa una disminución drástica tanto en clorofila a como clorofila b, evidenciando un daño en las moléculas.

Estableciendo una relación entre las clorofilas evaluadas, se precisa que en plantas de maíz existe una mayor concentración de clorofila a con respecto a clorofila b, pero, teniendo en cuenta la respuesta de las clorofilas de manera independiente frente a la radiación, es la clorofila a, la que se ve más afectada (Figura 23 a y b).

2.4.2 Aspectos estructurales:

2.4.2.1 Longitud de la planta. Los resultados obtenidos concuerdan con Yin & Wang (2012) quienes después de irradiar plantas de maíz durante 4 semanas observaron disminución en la altura. Correia et al. (2000) y Tevini et al. (1989) citado por Pal, Sharma, Abrol, & Sengupta (1997), afirman que la causante de dicho estancamiento en la altura de la planta se debe a que se inhibe la biosíntesis de auxinas (principalmente el ácido indol acético) las cuales estimulan el crecimiento, principalmente la elongación de las células; además, Yin & Wang (2012) citan a Saile-Mark & Tevini (1997) quienes afirman que también se ve afectada la biosíntesis de giberelinas. La presente investigación evidencia de manera cualitativa (figura 24) y cuantitativa (figura 25), los efectos de la radiación UV-B sobre la altura de la planta, la cual se ve afectada notablemente. La figura 25 muestra las diferencias existentes entre la longitud total de las plantas control y las irradiadas, evidenciando así que el efecto de la radiación UV-B sobre la longitud de las plantas, se presenta de manera inmediata, si se tiene en cuenta que para el segundo muestreo, la longitud ya se ha reducido hasta un 6.29%.

Figura 24. Plantas testigo Vs plantas bajo influencia de radiación UV-B que permiten apreciar el cambio a nivel de la longitud de la planta.

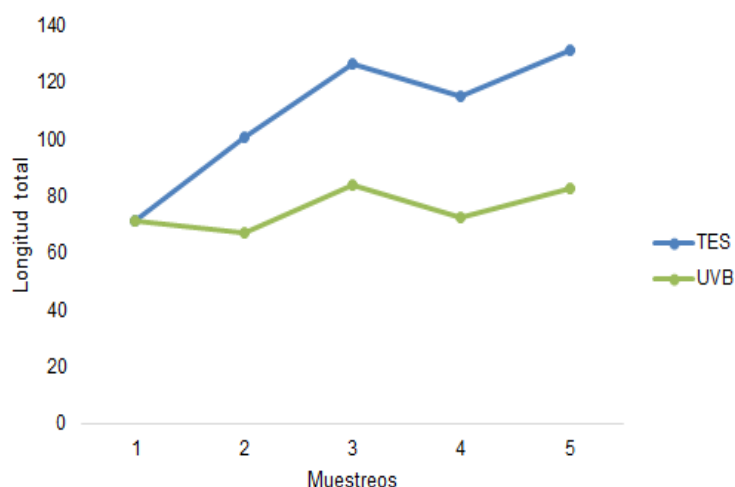




Fuente: Autor

En el muestreo 5 tras 120 horas de exposición a UV-B se evidencia una diferencia de 49 cm de altura entre plantas testigo y plantas irradiadas, con un 37% menos en longitud en las plantas irradiadas; para esta fase final de la experimentación las plantas irradiadas crecieron solo un 15.60% con respecto al primer muestreo, mientras que las testigo tuvieron un crecimiento del 83.67%.

Figura 25. Longitud total de plantas irradiadas con UV-B (UV-B) y sus respectivos controles (TES). Muestreos: 1 (Día 1), 2 (Día 5), 3 (Día 9), 4 (Día 13), 5 (Día 17).



Fuente: Autor

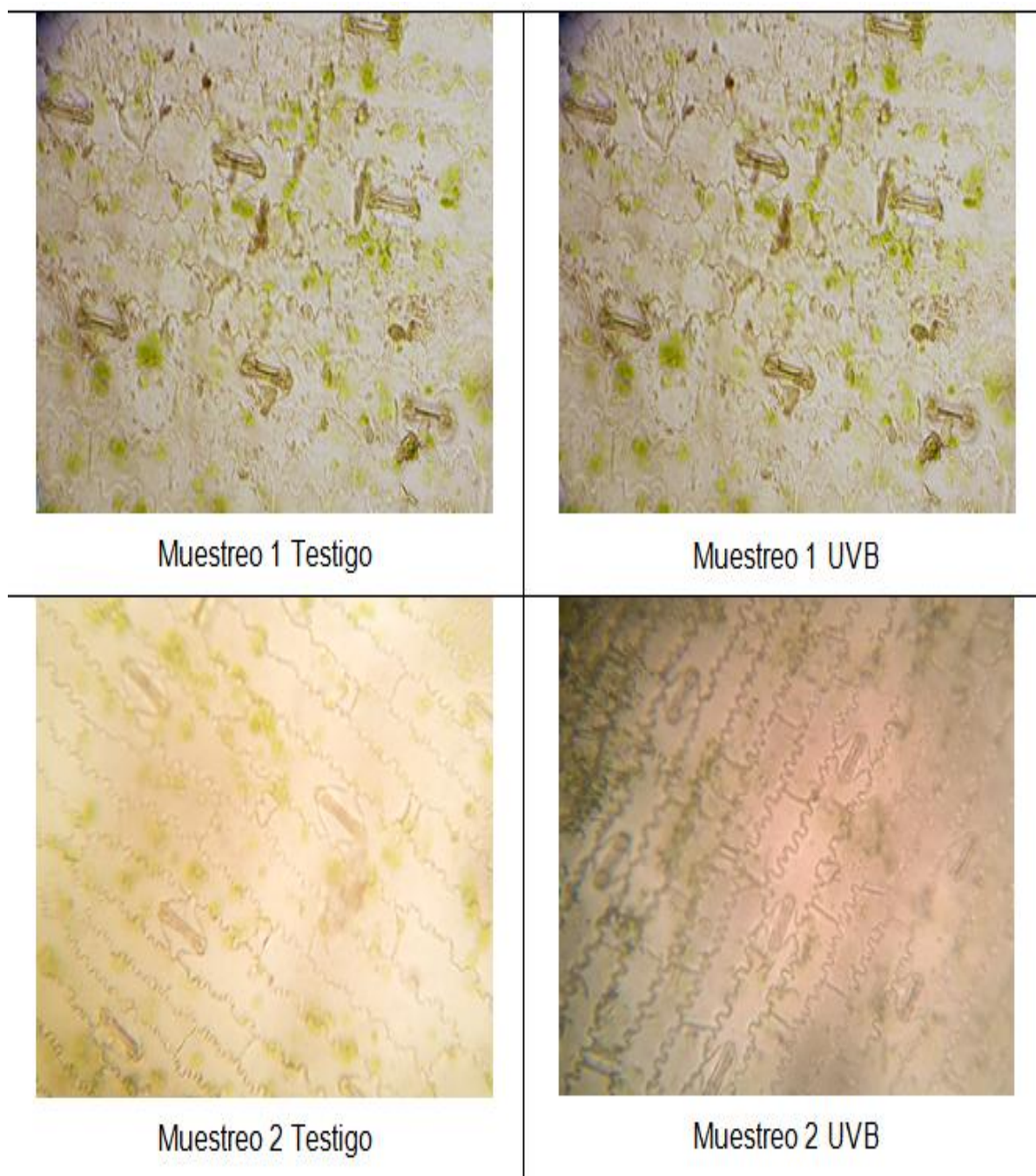
Autores como Pal, Sharma, Abrol, y Sengupta (1997) afirman que los daños a nivel de la altura de la planta no son alarmantes, ya que en su estudio sobre el efecto de la radiación UV-B sobre el crecimiento de plantas de maíz encontraron que al finalizar la fase de experimentación, las plantas que habían sido excluidas de la UV-B solar sólo tuvieron un crecimiento de 4 a 10% en todas las etapas de crecimiento más que las que se sometieron a la radiación UV-B, sin embargo es importante tener en cuenta que los autores trabajaron con filtros de exclusión UV-B solar y en este caso las plantas se sometieron a radiación UV-B a una mayor intensidad, por lo cual es de esperarse la alta variación que existe entre el crecimiento expuesto por plantas testigo con respecto a las irradiadas; por su parte, otros trabajos con plantas C4 concuerdan con la presente investigación, como la realizada por Kataria y Guruprasad (2012) quienes concluyen que la radiación UV-B si tiene efectos nocivos a nivel de la altura de la planta, más exactamente la longitud internodal del tallo, sin embargo estos efectos son más nocivos en plantas C3 comparadas con plantas C4.

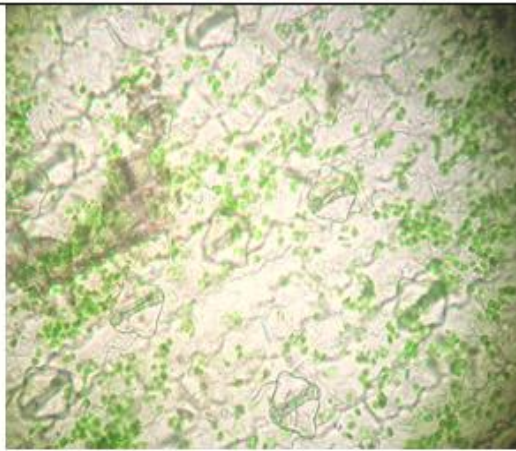
2.4.2.2 Estado de los estomas

2.4.2.2.1 Análisis morfométrico. La luz es uno de los factores con mayor influencia en la apertura y/o cierre de los estomas, ya que al iluminarse, los cloroplastos presentes en las células oclusivas inician un proceso de hinchamiento, además se estimula la absorción de iones y la acumulación de solutos orgánicos llevando a la disminución del potencial osmótico, con lo cual esta dinámica permite la apertura o cierre del estoma y por ende cambios a nivel de la longitud y ancho del mismo, teniendo esto una relación directa con la actividad fotosintética en la planta (Suárez & Fernández, 1984).

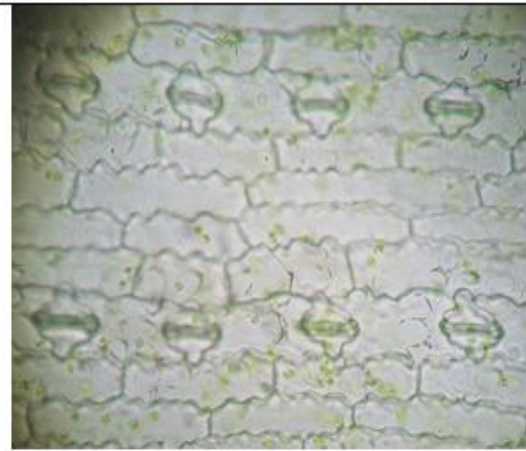
En la presente investigación, el análisis morfométrico de los estomas pone de manifiesto el efecto que causa la radiación UV-B sobre estos, en la medida que se observa un hinchamiento del estoma y en la mayoría de casos alargamiento del mismo (figura 26), además del cierre completo del ostiolo comparado con estomas de plantas testigo, los cuales se mantuvieron con un mayor ancho y menor longitud, dicho cambio en la morfometría pueda deberse al cambio a nivel del volumen en los cloroplastos. La figura 27a muestra los cambios en los estomas de las plantas control con respecto a las irradiadas, teniendo en cuenta su relación largo/ancho, observándose a nivel general un comportamiento similar tanto para plantas irradiadas como para plantas testigo. Se observa una disminución en esta relación en plantas irradiadas, no obstante el cambio no es muy significativo.

Figura 26. Microfotografías de hojas de maíz sometidas a radiación UV-B y sus respectivos testigos, mostrando la disposición y tamaño de los estomas (Aumento: 40X).

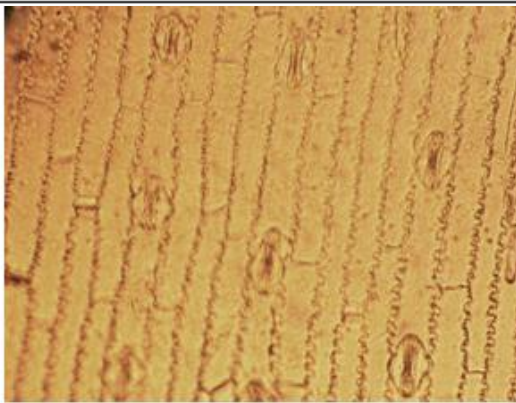




Muestreo 3 Testigo



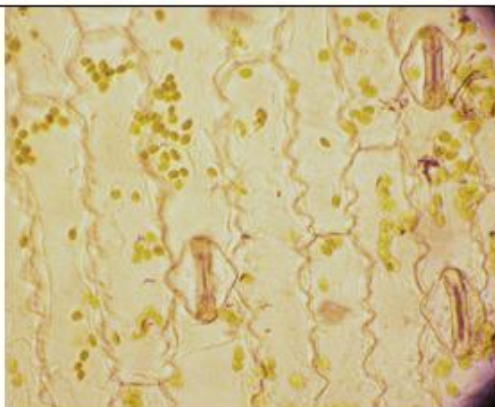
Muestreo 3 UVB



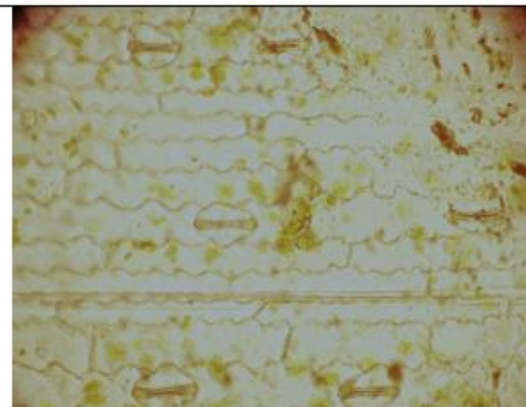
Muestreo 4 Testigo



Muestreo 4 UVB



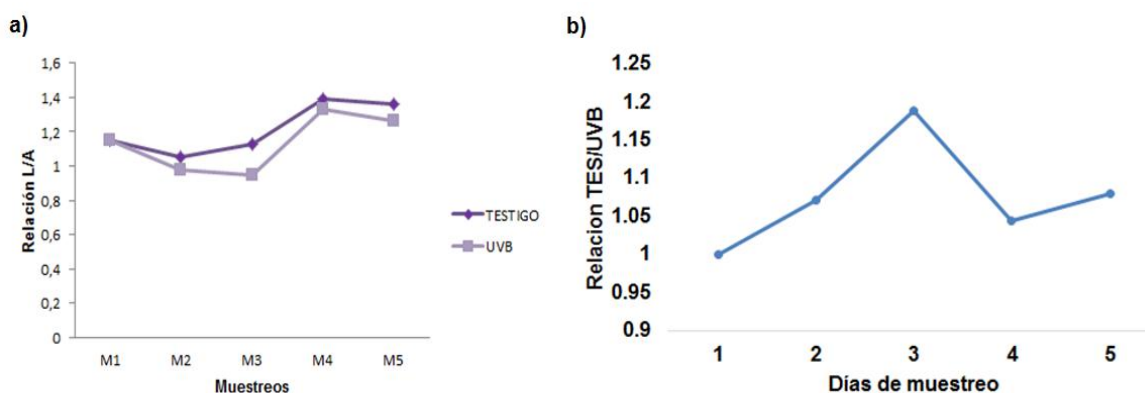
Muestreo 5 Testigo



Muestreo 5 UVB

Fuente: Autor

Figura 27. Relación largo/ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-B y su testigo. M1 (Día 1), M2 (Día 5), M3 (Día 9), M4 (Día 13), M5 (Día 17).

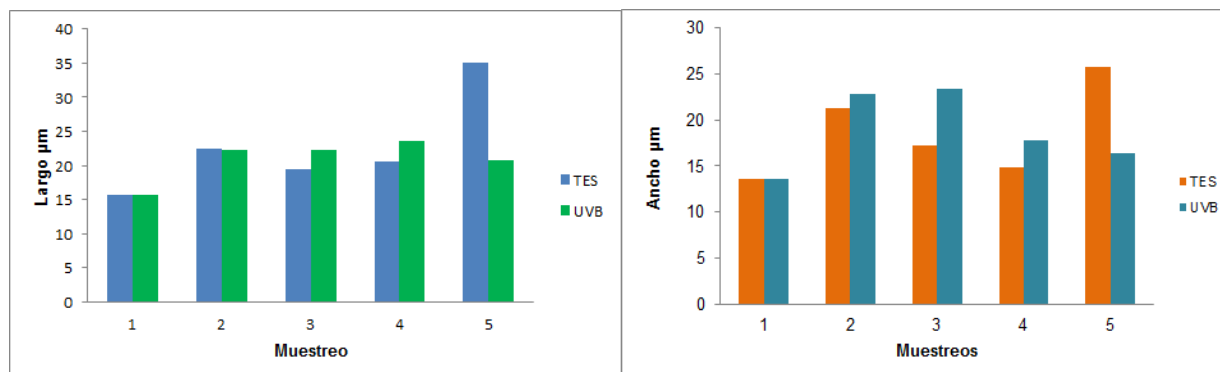


Fuente: Autor

Aunque se presentaron algunos cambios en el tamaño de los estomas y en la apertura estomática de los mismos, los resultados evidencian poca influencia de la UV-B sobre aspectos morfológicos de los estomas de las plantas de maíz. Para el caso del ancho, es posible observar que los estomas de plantas irradiadas presentan mayores dimensiones comparado con sus respectivos testigos a partir del 2 muestreo (Figura 28), esto puede deberse a la disminución del potencial osmótico a causa del hinchamiento de los cloroplastos presentes en las células oclusivas como se mencionó anteriormente.

De igual manera, la figura 28 evidencia en el muestreo 5 una notoria disminución en el ancho de los estomas de plantas irradiadas ($16.38\mu\text{m}$) comparada con su testigo ($25.8\mu\text{m}$), lo cual puede deberse a la destrucción de los cloroplastos allí presentes tras someterse a varios días de exposición a UV-B, de igual manera, con la relación presentada en la figura 28, puede evidenciarse durante cada muestreo que aunque sigue siendo mayor el ancho de los estomas de las plantas irradiadas que el de sus testigos, se observa que este valor desciende a medida que pasan los muestreos.

Figura 28. Largo y ancho de estomas de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos. TES (Plantas control), UV-B (Plantas tratadas con radiación). Muestreos: 1 (Día 1), 2 (Día 5), 3 (Día 9), 4 (Día 13), 5 (Día 17).



Fuente: Autor

Es importante tener en cuenta que no se encontraron antecedentes a la presente investigación en cuanto al efecto de la radiación UV-B sobre medidas de ancho y longitud de estomas en plantas C4, ya que la mayoría de estudios enfatizan en otros aspectos ambientales como efecto de la temperatura y disponibilidad de CO₂ atmosférico, motivo por el cual no se puede realizar comparaciones de estos resultados con otras investigaciones o autores.

2.4.2.2.2 Índice estomático. Existen algunos genes que controlan la producción y distribución de los estomas en la hoja, estos genes modulan las divisiones asimétricas en el linaje celular de los estomas; de este comportamiento y su frecuencia, depende la producción del número de estomas (Bergmann & Sack, 2007). Como se mencionó anteriormente la radiación UV-B induce cambios a nivel genético-molecular que se pueden expresar a nivel macroscópico.

El índice estomático se mantuvo relativamente estable con pocas diferencias en cada muestreo. Las plantas testigo presentan valores mínimos en los muestreos 2 y 3 comparados con los demás, a lo que no se puede atribuir una causa clara, salvo la aleatoriedad al seleccionar las plantas en los diferentes muestreos. En el muestreo 3 se

presentaron diferencias importantes ya que las plantas testigo presentaron un IE de 15.38 y las irradiadas de 26.32 (Tabla 6), estos resultados para plantas irradiadas, concuerdan los resultados obtenidos para otros parámetros evaluados anteriormente en donde los muestreos 3 y 4 presentan los valores más sobresalientes probablemente como una respuesta fisiológica de las plantas frente al estrés causado por la radiación.

Tabla 6. Índice estomático de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos.

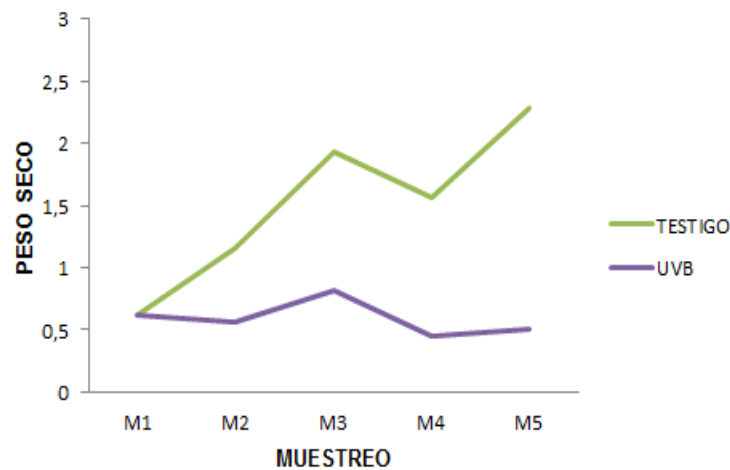
IE	M1	M2	M3	M4	M5
TES	25.58	17.86	15.38	28.85	25.00
UV-B	25.58	20.37	26.32	26.32	21.62

Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Cassonet al. (2009) quienes afirman que el aumento de la cantidad de luz influye positivamente los cambios en número de estomas en la medida que la luz es una señal importante para que las células epidérmicas decidan su destino. Esto puede explicar el porqué las plantas sometidas a UV-B no disminuyeron su índice estomático al incidir sobre la formación de los estomas la intensidad de luz recibida.

En la presente investigación se evidencia que los estomas de maíz no resultaron con daños mayores teniendo en cuenta que para el total de muestreos, las plantas irradiadas presentaron un promedio de 11 estomas por mm², y las plantas testigo un promedio de 11.2 estomas por mm².

2.4.2.3 Biomasa. Como resultado de la exposición de plantas de maíz a la radiación UV-B, se encontró una disminución del peso seco a medida que avanzan los días de exposición. Los resultados de la presente investigación concuerdan con lo expresado por Kakani et al. (2003b) quienes evidenciaron que si la dosis de UV-B excede los límites de tolerancia de la planta, se producen cambios a nivel de la anatomía foliar y se genera reducción en la biomasa.

Figura 29. Biomasa de plantas de maíz sometidas a radiación ultravioleta B (UV-B) y sus respectivos testigos. M1 (Día 1), M2 (Día 5), M3 (Día 9), M4 (Día 13), M5 (Día 17).

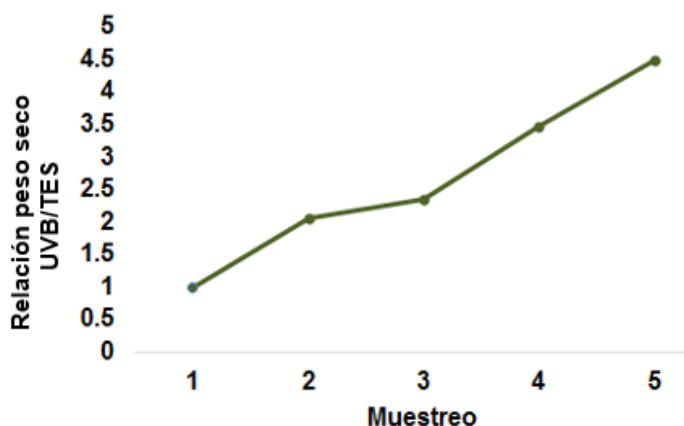


Fuente: Autor

Con solo 4 días de exposición a UV-B, las plantas irradiadas presentan un 51.72% menos de peso seco que su testigo y una reducción del 9.67% de peso seco comparado con el primer muestreo, contrario a esto, las plantas testigo aumentan un 87.09% con respecto al muestreo 1.

La figura 29 evidencia que para el muestreo 3 las plantas irradiadas presentaron una mejora en el peso seco del 46.42% con respecto al muestreo 2, si bien se ha mencionado anteriormente, al parecer para esta fase de experimentación la planta desarrolla una serie de mecanismos para solventar los daños que está ocasionando la UV-B ya que se ha visto el mismo comportamiento de mejora en otros parámetros evaluados.

Figura 30. Relación del peso seco entre plantas irradiadas con UV-B y sus respectivos controles (TES).



Fuente: Autor

Los resultados permiten apreciar el impacto de la radiación ultravioleta B sobre el peso seco. Las plantas control aumentan el peso seco mientras que la tendencia en plantas irradiadas es mantener el mismo peso o disminuirlo (Figura 30). La producción de biomasa se puede relacionar con otros cambios ocurridos a nivel estructural como disminución en la longitud de la planta y el área foliar, e incluso de la concentración de pigmentos ya que según Casierra-Posada, Peña-Olmos y Ulrichs (2011) “un peso específico alto (principalmente en hojas) está relacionado con mayor cantidad de componentes fotosintéticos y bioquímicos por unidad de área foliar” e incluso lo relacionan con la densidad estomática, lo cual concuerda con otros estudios realizados en plantas C4 por Zuk, Upadhyaya y Golaszewski (2003) en plantas de almorejo (*Setaria viridis*) y Mark, Saile-Mark & Tevini (1996) en plantas de Maíz (*Zea mays*), los cuales evidenciaron disminución en la biomasa de las plantas a medida que pasan los días de exposición a UV-B, esto lleva a concluir que de manera indirecta estas plantas presentan una menor tasa de fijación de CO₂.

2.4.2.4 Sistema radicular

2.4.2.4.1 Longitud de la Raíz. El análisis de la longitud radicular evidencia claramente que la radiación UV-B afectó rápidamente a las plantas expuestas ya que para el segundo muestreo ya presentaban una notoria disminución en longitud, observándose claras diferencias entre plantas con y sin radiación UV-B (hasta un 28.38%) (Figura 31 y 32) esta tendencia a disminuir la longitud se agudiza a medida que pasan los muestreos. En el muestreo 3, la medición de este parámetro evidencia una mejora en plantas irradiadas, las cuales presentaron un desarrollo del 28.31% con respecto al muestreo 2, no obstante, las plantas testigo presentaban mayor longitud radicular (36.67%) que las plantas irradiadas. Esta mejora se puede atribuir a una serie de mecanismos de protección que la planta emplea para sobrellevar el estrés que puede generar la radiación UV-B ya que pueden existir efectos sobre la división celular, o la síntesis de sustancias protectoras.

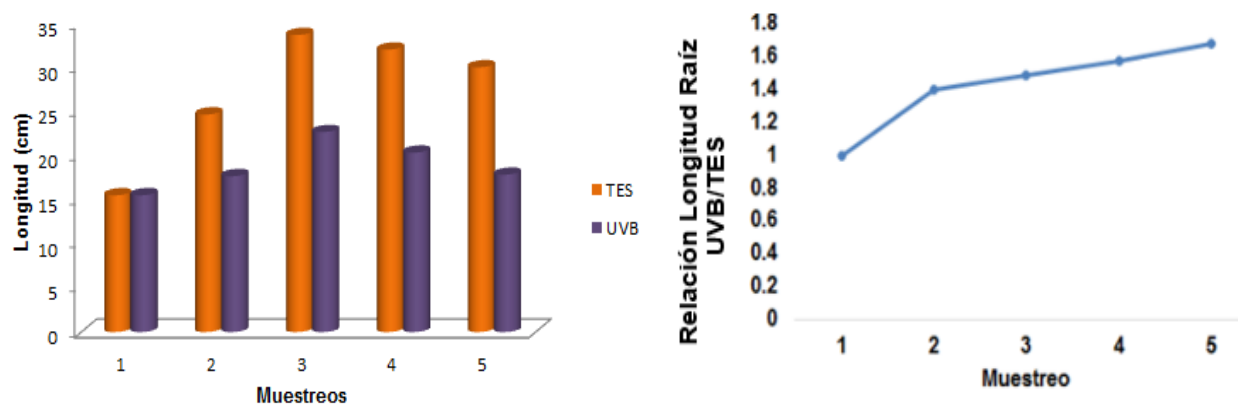
Figura 31. Fotografía de raíz de plantas de maíz tratadas con radiación UV-B y sus respectivos testigos. Irradiadas (Derecha), Testigo (Izquierda).



Fuente: Autor

A partir del muestreo 4, no se observa un mayor desarrollo radicular en las plantas control (Figura 32a) lo que se puede atribuir al tipo y tamaño de maceta en la que se realizó la siembra, por lo cual a medida que la planta se iba desarrollando, su raíz se vio impedida a seguir creciendo por falta de espacio y nutrientes, no obstante, los resultados son muy dicentes con respecto a los efectos ocasionados por la radiación ultravioleta sobre la raíz de plantas irradiadas.

Figura 32. Efecto de la UV-B sobre la longitud de la raíz. **(a)** Longitud de la raíz de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos (TES). **(b)** Relación de la longitud de la raíz entre plantas irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos.



Fuente: Autor

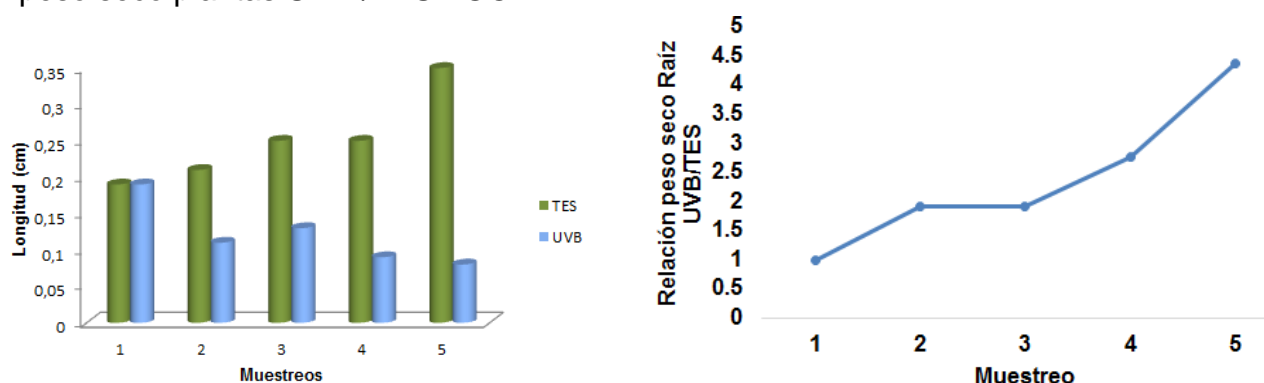
Por otra parte, no solo se evidenció el efecto sobre la longitud de la raíz principal sino además sobre el crecimiento y surgimiento de raíces secundarias y sobre el grosor de ambas. Como se mencionó en el enunciado 2.4.2.1 se da razón de dicha respuesta, al efecto que causa la radiación UV-B directamente sobre las auxinas y las giberelinas, dado que la radiación actúa sobre la estructura química de estas fitohormonas de manera análoga a como actúa sobre la estructura de pigmentos fotosintéticos, además de inducir la producción de ácido abscísico (ABA).

2.4.2.4.2 Biomasa de la Raíz. El efecto de la radiación ultravioleta de tipo UV-B ha sido corroborado en los diferentes parámetros evaluados con anterioridad teniendo dichos resultados algunas relaciones entre los mismos. La raíz es un órgano fundamental en la planta, ya que le permite absorber agua y sales minerales vitales para la fotosíntesis, de manera que alteraciones en el funcionamiento de ésta puede desencadenar una serie de alteraciones fisiológicas de otros procesos que dependen de ella. Con tan solo 4 días de exposición a UV-B, las plantas presentan una reducción del 42.10% del peso seco de la raíz (Figura 33a). Estableciendo una relación entre plantas irradiadas y plantas testigo, se observa claramente que estas últimas tienden a aumentar en biomasa comparado

con las irradiadas, las cuales durante el muestreo 3 presentaron una leve mejora para seguir después con la misma tendencia. (Figura 32b).

Sin duda, la figura 33a y 33b, permiten apreciar el efecto directo de la radiación UV-B sobre la biomasa de la raíz de plantas de maíz ya que al terminar la fase de experimentación las plantas testigo ganan un 84.21% de peso seco y por el contrario plantas irradiadas perdieron un 57.89% del mismo.

Figura 33. Efecto de la UV-B sobre la biomasa de plantas de maíz. **(a)** Peso seco de raíz de plantas de maíz irradiadas con UV-B y sus respectivos testigos (TES). **(b)** Relación peso seco plantas UV-B/TESTIGO.



Fuente: Autor

Autores como García (2006) en estudios de longitud radicular en plantas de maíz expresan que una pérdida en la biomasa de la raíz pueda deberse a una disminución de la elongación celular como consecuencia de un menor transporte de auxinas, sin embargo es importante tener en cuenta que la investigación citada no estudió el efecto de la radiación UV-B sobre el sistema radicular, si no el efecto de las concentraciones de plomo. No obstante, Smith (2000) citado por Lasso-Rivas (2015) precisa que una reducción en la acumulación de biomasa es un indicador fiable de la sensibilidad de las plantas a la radiación UV al representar la acumulación de los efectos deletéreos de ésta sobre la fisiología de las plantas.

2.5 CONCLUSIONES

En el ambiente natural, las plantas están sometidas a la acción de diversos factores ambientales, que en conjunto hacen su respuesta fisiológica, la cual ocurre entre especies e incluso entre la misma planta, y contribuye, a las diferencias funcionales y adaptativas entre ecosistemas (Manrique, 2003).

La presente investigación permitió comprobar que la exposición de plantas de maíz a radiación UV-B, concluye en ciertas afectaciones fisiológicas-bioquímicas reflejadas a nivel tanto estructural, como ultraestructural. Dichas respuestas a nivel estructural como reducción en la longitud de la planta, disminución del área foliar, pérdida de crecimiento de la raíz, entre otros, repercuten indirectamente en la acumulación de biomasa, esperándose cambios a nivel de este parámetro; por su parte cambios a nivel ultraestructural como concentración de cloroplastos así como de pigmentos fotosintéticos y el funcionamiento de la cadena transportadora de electrones repercute en una disminución de la capacidad fotosintética de la planta. Incluso se puede inferir que cambios a nivel ultraestructural son responsables de los efectos a nivel estructural y viceversa, como por ejemplo alteraciones negativas a nivel de la condición estomática que conlleva a una disminución de la tasa fotosintética como lo corroboran Kataria et al. (2013) y Correia et al. (1999), otro ejemplo es una disminución en la concentración de cloroplastos y pigmentos que puede inducir a pérdida de biomasa Casierra-Posada, Peña-Olmos, & Ulrichs (2011).

Por otra parte teniendo en cuenta la respuesta obtenida para el tercer muestreo en parámetros ultraestructurales como la reacción de hills, la concentración de cloroplastos y los extractos cetónicos y etanólicos, y en parámetros estructurales como índice estomático y biomasa, se infiere una acción protectora de compuestos fenólicos (posiblemente chalconas, flavanonas y/o flavonoides) contra la radiación UV-B inmediata a la exposición a la radiación, corroborando lo propuesto por Atkinson y Urwin (2012) citado por Lasso-Rivas (2015) quienes afirman que las plantas desarrollan mecanismos que les permiten detectar y responder a los diferentes factores de estrés, para reducir

sus efectos negativos, teniendo en cuenta que la respuesta en la mejora de estos parámetros se presentó una vez las plantas se sometieron a la radiación UV-B en el muestreo 2, y evidenciado en el muestreo 3. No obstante los muestreos posteriores (M4 y M5) semejan una tendencia a disminuir, lo que lleva a inferir que pese a los esfuerzos de la planta para sobrellevar los efectos nocivos de este factor (UV-B) la planta llega a un punto límite. Por todo lo anterior y teniendo en cuenta lo evidenciado en la investigación de Morales et al. (2010) finalmente se infiere que la UV-B induce la síntesis de flavonoides. Lo anterior contrapone lo propuesto por Correia et al. (1999) quienes afirman una resistencia del maíz al ser genéticamente adaptada a una alta radiación UV-B, sin embargo nuestra investigación corrobora otra afirmación de estos investigadores quienes sugieren una dosis suplementaria de UV-B para inducir cambios en la planta, esto es importante ya que en la presente investigación se utilizaron dos lámparas UV-B lo cual agudizó los efectos de la misma, esto permitió establecer un punto límite de resistencia frente a la radiación de esta planta C4.

Por otra parte, se concluye que la planta de maíz, es un adecuado modelo de estudio de planta C4, debido a su fácil propagación, cantidad de biomasa que puede obtenerse para estudio y a su fácil manejo en laboratorio y campo.

Es importante mencionar que las condiciones de luz natural en las que se encontraban las plantas testigo era de alta radiación solar propias del trópico, y que según reportes del IDEAM, para el mes en que se realizaron los muestreos (Abril/2016) se presentaban altos niveles de radiación solar y UV-B para la zona andina, acompañado de niveles superiores de temperatura, lo cual pudo influir en algunas respuestas fisiológicas.

Si se tiene en cuenta que de los productos fotosintéticos dependen en gran medida los seres vivos para llevar a cabo sus procesos metabólicos, pensar en un mundo en el que cada vez la radiación UV sea mayor y con esto las plantas limíten sus procesos, lleva a inferir un panorama desalentador en la medida que se desataría una reacción en cadena de acontecimientos catastróficos en el planeta.

3. EFECTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA UV-A SOBRE PLANTAS C4 USANDO COMO MODELO *Zea mays*

3.1 INTRODUCCIÓN

La radiación UV-A al igual que la UV-B son porciones del espectro electromagnético que ingresan al planeta tierra atravesando la capa de ozono; abarca longitudes de onda entre 320 y 400 nm y es la parte menos energética de la radiación UV (3.1-3.9 eV), dicha radiación ha tenido un mayor ingreso al planeta durante las últimas décadas debido al deterioro de la capa de ozono. Frederick y Lubin (1988) afirmaron que existe alrededor de 10 a 15 veces más fluencia diaria de UV-A en la radiación solar, en este sentido, existen algunas discrepancias con respecto a la benignidad de esta radiación en plantas, así, algunos autores aseguran que este tipo de radiación no es tan dañina sobre algunos aspectos fisiológicos de las plantas, sino que por el contrario, contribuye en la mejora de algunos procesos a nivel del aparato fotosintético y que además contribuye en la síntesis de compuestos antioxidantes o protectores en la planta, principalmente cuando estas se ven expuestas a niveles de estrés como resultado del sometimiento a radiaciones más ionizantes como la de tipo UV-B. Por otro lado, otros autores aseguran que dicha radiación puede ser dañina al entrar en mayor proporción a la biosfera y por su capacidad de penetración en el mesófilo de la hoja.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el número de estudios dirigidos a las respuestas de las plantas a UV-A son relativamente pocos y, aunque las plantas que crecen en la luz del sol están expuestas a la radiación UV-A, el impacto es aún desconocido (Moan, 2009).

Por otra parte, contrario a lo ocurrido con la UV-B, Henderson (1977) y Reid et al. (1971) citado por Wang, Gorsuch y Hughes (1997) aseguran que la radiación UV-A no varía significativamente con la altitud, latitud u otras razones, sino que se mantiene constante

en la luz solar, e incluso aseguran que esta radiación no incrementaría si la capa de ozono siguiera en deterioro.

Aunque son pocas las investigaciones al respecto, algunas concuerdan en los efectos fitoprotectores de la radiación UV-A como se mencionó anteriormente, como por ejemplo inducir a una mayor expresión de chalcona sintasa y el aumento de la actividad ADN-Fotoliasa (Wilson, Huner, & Greenberg, 2001), otros autores como Panagopoulos, Bornman y Olof (1990) afirman que dicha radiación es utilizada por la planta incluso para la fotosíntesis, no obstante afirman que tiene efectos negativos sobre la síntesis de carotenoides y esto puede ser confirmado con lo expresado por Gordart, Thomas, Miller y Lee (1993) quienes comprobaron que la UV-A es capaz de interactuar con algunos cromóforos para producir especies de oxígeno activo mediante fotosensibilización.

Las plantas C4 se caracterizan por poseer un metabolismo fotosintético eficaz dada las condiciones ambientales en las que se encuentran, esto permite concluir que presentan una mayor resistencia frente a la radiación ultravioleta, por lo cual resulta interesante observar su comportamiento frente a la UV-A y determinar de qué manera influye sobre aspectos fisiológicos y bioquímicos de la planta, teniendo en cuenta que esta radiación es capaz de penetrar a mayores profundidades en las hojas comparada con la UV-B (Day, Howells y Rice, 1994), por lo tanto no se debe descartar su efecto, ya que esta puede ingresar al mesófilo de la hoja y es allí donde especialmente las plantas C4 poseen sus cloroplastos granales con PSII.

Es así como el presente capítulo muestra las respuestas a la radiación UV-A de plantas C4 usando como modelo de estudio el maíz (*Zea mays*) sometidas a fotoperiodos UV-A de 6 horas diarias por 20 días, comparadas con plantas testigo las cuales estuvieron en condiciones de luminosidad ambiente.

3.2 MARCO TEÓRICO

3.2.1 Efecto sobre aspectos ultraestructurales de la planta

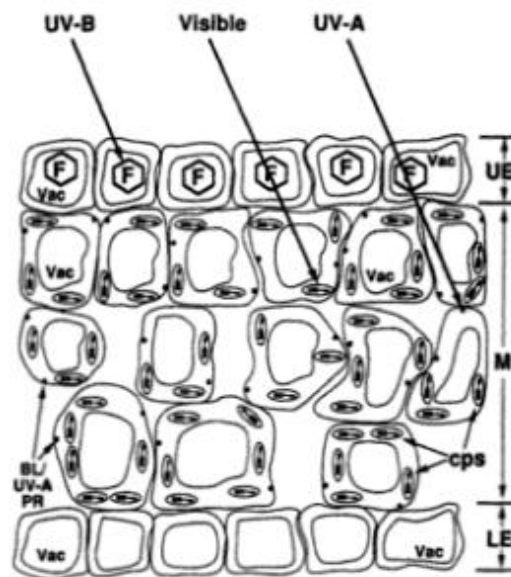
3.2.1.1 Efecto sobre el aparato fotosintético. Parte de la radiación ultravioleta (UV) es un factor ambiental importante para las plantas en la medida que influye positiva o negativamente sobre las mismas dependiendo de su intensidad, en este sentido es evidente la gran variedad de investigaciones que existen con respecto al efecto de la UV-B sobre éstas comparado con los pocos reportes encontrados sobre UV-A, reportes que minimizan si se especifica su efecto sobre las C4. De esta manera se ha encontrado que las investigaciones frente a la radiación de tipo UV-A se enfocan sobre su activación de mecanismos de fitoprotección en el aparato fotosintético (Ibdah et al. 2002), siendo muy pocos los reportes en plantas C4.

A modo general, en lo que al aparato fotosintético se refiere, la radiación UV-A activa dichos mecanismos de defensa para menguar el efecto dañino de radiaciones más ionizantes como las de tipo UVB, teniendo en cuenta que el daño principal al aparato fotosintético en la planta parece estar inclinado primordialmente hacia el fotosistema II (PSII) (Barbato et al., 2000) ya que es allí donde inicia la fase luminosa de la fotosíntesis, lugar donde se encuentran la antena colectora conformada por los pigmentos fotosintéticos, y pese a que fisiológicamente sólo las células del mesófilo de las C4 poseen cloroplastos con grana y PSII (los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular son agranales y carecen de PSII), esto trae consecuencias desfavorables para la planta aún cuando las C4 se caracterizan por su adaptación a ambientes hostiles.

Sin embargo a pesar de los estudios que resaltan la línea de acción protectora que activa la UV-A en la planta, Turcsanyi y Vass (2000); Vass et al. (2002), (2007) citados por Zvezdanovic, Cvetic, Veljovic y Markovic (2009) demostraron que ésta tiene efectos dañinos sobre los tilacoides. Esto se relaciona con lo expresado por Wang, Gorsuch y Hughes (1997) quienes afirman que la radiación UV-A penetra a mayor profundidad en la hoja (Ver figura 34) ya que la UV-B es interceptada por flavonoides, vacuolas o por la

epidermis superficial. La UV-A atraviesa la epidermis y se introduce sin problema a través de los flavonoides.

Figura 34. Transmitancia de la radiación solar a través de la hoja.



Fuente: Wang, Gorsuch y Hughes (1997).

Turcsányi y Vass (2000) descubrieron que la radiación UV-A tiene casi los mismos efectos nocivos que la UV-B sobre el PSII de plantas C3 (estudio realizado en plantas de espinaca), años más tarde, los autores en compañía de otros investigadores comprueban que afecta específicamente el transporte de electrones, tanto en el complejo oxidante del agua, como en el sitio de unión del aceptador de electrones de quinona QB, reafirmando que el mecanismo de daño es similar al inducido por UV-B, aunque es menos perjudicial y los efectos secundarios del aceptor son menos pronunciados, afirmando además que los detalles del mecanismo de dichos efectos aún no han sido aclarados (Turcsányi & Vass, 2002).

Si bien es cierto, los estudios enfocados en plantas C3 comprueban el efecto nocivo de la UV-A sobre el aparato fotosintético, se debe considerar que pese a las diferencias existentes entre la fotosíntesis C3 y C4, los cloroplastos de las células del mesófilo de las C4 son análogos a los de las C3. Estos investigadores indicaron que la UV-A induce

a una pérdida de centros PSII (en donde ocurre la recombinación de carga S2 del complejo oxidante del agua y los aceptores QA y QB). De este modo la UV-A inhibe el transporte de electrones PSII al superar 45 veces la energía de la UV-VIS.

3.2.1.2 Efecto sobre los pigmentos fotosintéticos. En un entorno natural, las plantas se exponen de 10 a 100 veces más a la radiación UV-A que a la UV-B (Moan, 2009), esto puede inducir cambios en el aparato fotosintético si se tiene en cuenta que los aceptores primarios de la energía lumínica son los pigmentos fotosintéticos. Las clorofilas tienen dos regiones principales de absorción en el rango visible, una banda "roja" (Q) y una banda "azul" (b). Los máximos de absorción para la banda Q en clorofila a y b en acetona se sitúan a 662.1 nm y 645.5 nm respectivamente; de este modo, cambios en los espectros de absorción de estos pigmentos al exponerlos a radiaciones más ionizantes pueden dar un indicio del efecto de dicha radiación sobre estos. Así Zvezdanovic y Markovic (2008) comprobaron que la UV-A al igual que la UV-B induce un blanqueamiento estándar de la clorofila en extractos cetónicos, incluso los autores atribuyen a estas dos radiaciones la formación de radicales libres ROS los cuales atacan los dobles enlaces de la cadena de fitol del pigmento conduciendo a la formación de numerosos fotoproductos isoprenoides. Se estima que la pérdida de clorofila durante el envejecimiento ya sea natural o por efecto acelerado a la respuesta UV-A está asociada con la formación de radicales libres y la posterior peroxidación de los lípidos de la membrana (Joshi, Biswal, & Biswal, 1991).

Así mismo Joshi, Biswal y Biswal (1991) evidencian años anteriores el efecto dañino de la UV-A, afirmando que ésta degrada la molécula de clorofila y que los daños persisten aún cuando la planta ya no es expuesta a la radiación. No obstante esto induce a la activación de algunos fotorreceptores (en particular el fitocromo), desempeñando un papel importante en la fotoprotección del aparato fotosintético al comprobar que el fitocromo tiene una fuerte influencia en la producción de antocianinas durante el desarrollo de las hojas.

3.2.1.3 Efecto sobre flavonoides. Si bien es cierto, los flavonoides son compuestos que desarrollan en la planta una barrera protectora frente a diversos cambios ambientales, siendo la radiación uno de ellos. Sin embargo, autores como Wang, Gorsuch y Hughes (1997) afirman que la radiación UV-B es interceptada por estos compuestos, además que la radiación UV-A puede atravesarlos sin problema llegando a ser más nociva para el aparato fotosintético de la planta.

En plantas de maíz, Stapleton y Walbot (1994) demostraron que éstas contienen flavonoides principalmente antocianinas, las cuales coadyuvan a la protección de DNA ocasionado por la radiación ultravioleta. Wellmann et al. (1984) citado por Buchholz, Ehmann y Wellmann (1995) describieron un efecto inhibidor de la UV en la formación de antocianinas y su reversibilidad por acción de la UV-A. Estudios más recientes como el de Gómez-Zeledón y Jiménez (2011) comprobaron que la radiación UV-A induce una alta producción de antocianinas las cuales se almacenan en las vacuolas. De modo que existen ciertas discrepancias en el sentido de que la radiación UV-A puede llegar a ser dañina en un punto donde la planta no es capaz de tolerarla y lo que al principio puede llevar a la síntesis de compuestos fitoprotectores, finalmente se puede convertir en un problema para la planta, esto, considerando los estudios en revisión, pueda estar relacionado con la edad de la planta, estado nutricional y fisiológico y la intensidad de luz a la cual es sometida a si como la cantidad de exposición a la misma.

3.2.2 Efecto sobre aspectos estructurales de la planta

3.2.2.1 Efecto sobre la longitud de la planta. No cabe duda de que el crecimiento de la planta es un buen indicador en cuanto a alteraciones fisiológicas en la planta se refiere, sin embargo algunos autores como Verdaguer, Jansen, Llorens, Morales y Neugart (2016), aseguran que la respuesta de este parámetro frente a cambios ambientales puede ser muy variable y que específicamente para el caso de la UV-A se deba a que esta genera cambios simultáneos en la planta ya sean a nivel morfológico, fotosintético o en la acumulación de compuestos fenólicos, indicando que dicho comportamiento genera indirectamente variaciones en los valores de biomasa.

3.2.2.2 Efecto sobre los estomas. Los estomas son sin duda estructuras que juegan un papel fundamental en la planta, en la medida que regulan el equilibrio de agua y el intercambio gaseoso entre los tejidos internos de la planta y la atmósfera. Por lo anterior es de deducir que cambios en los factores ambientales (más exactamente atmosféricos) pueden inducir alteraciones fisiológicas a nivel de los estomas. No obstante, se deben tener en cuenta algunos factores propios de la planta que pueden influir en cambios estomáticos, como lo descubrieron Orcen, Nazarian, Barlas y Irget (2013), quienes comprobaron que en plantas de maíz, el crecimiento foliar influye positivamente en parámetros como longitud y ancho de los estomas y negativamente en la densidad estomática. Estos autores, citan a Casson y Hetherington (2010) quienes afirman que la iniciación estomática está determinada por factores ambientales y genéticos, esto corrobora lo propuesto años atrás por Middleton y Teramura (1993) quienes afirman que la planta utiliza la radiación UV-A para el control estomático, además indican que esta radiación favorece positivamente la condición estomática en la medida que establece mecanismos de protección en estas estructuras.

En este sentido, se encuentran otros estudios específicos sobre el efecto de UV-A sobre la condición estomática, por ejemplo, en plantas de soja se ha demostrado que la radiación UV-A influye directamente en la respuesta de la conductancia estomática. Esto es consistente con estudios que muestran la influencia de la radiación UV-A sobre el comportamiento estomático (Assman y Grantz, 1990) y aunque no son específicos sobre plantas C4 si permiten dar algunos indicios de su mecanismo de acción sobre estas estructuras.

Por su parte Grantz y Assman (1991) descubrieron que tras la exposición a UV, las plantas C4 presentan apertura y cierre de sus estomas de manera más rápida comparado con plantas C3, esto lo comprobaron en estudios con plantas de caña de azúcar comparado con plantas de soja, encontrando diferencias interesantes entre plantas C3 y C4 con respecto a la respuesta estomática a la luz. Es importante tener en cuenta que para la fecha de publicación de la investigación mencionada no existían

reportes sobre el impacto de la luz sobre el metabolismo estomático en plantas C4 como lo exponen los autores.

3.2.2.3 Efecto sobre la Biomasa. La biomasa es un parámetro estructural de la planta cuyo resultado depende en gran medida de la respuesta de otros parámetros ya sean estructurales o ultraestructurales como el área foliar, longitud de la planta y/o la raíz, concentración de pigmentos, entre otros. En este sentido, se conocen pocos estudios que registren el efecto de la UV-A sobre la producción de biomasa vegetal (Verdaguer et al., 2016).

Estudios recientes, demuestran que la UV-A puede afectar positiva como negativamente la acumulación de biomasa, dando razón de estas variables al estrés inducido por la radiación en otros parámetros fisiológicos y morfológicos (Verdaguer et al., 2016). En especies C4 como *Amaranthus tricolor* su alta tasa de fotosíntesis puede solventar este déficit en biomasa al tener una mayor captación de CO₂ más sin embargo, no descartan que en algunas especies C4 pueda darse disminución de la biomasa al disminuir la actividad rubisco. Por otra parte, estudios con *Cucumis sativus* demostraron que la UV-A disminuye la cantidad de biomasa de los brotes, aunque no tiene cambios notables sobre la biomasa de las raíces. Resultados similares se encontraron *Triticum sativum* y en *Arabidopsis thaliana*. Por lo tanto, los datos implican que los efectos de UV-A sobre la biomasa raíz-brote son distintos argumentando que los efectos UV-A son más negativos sobre la biomasa de los brotes por el hecho de que están directamente expuestos a la luz solar y por lo tanto a UV-A. Algunos estudios han encontrado que la radiación UV-A puede promover la acumulación de biomasa en las raíces.

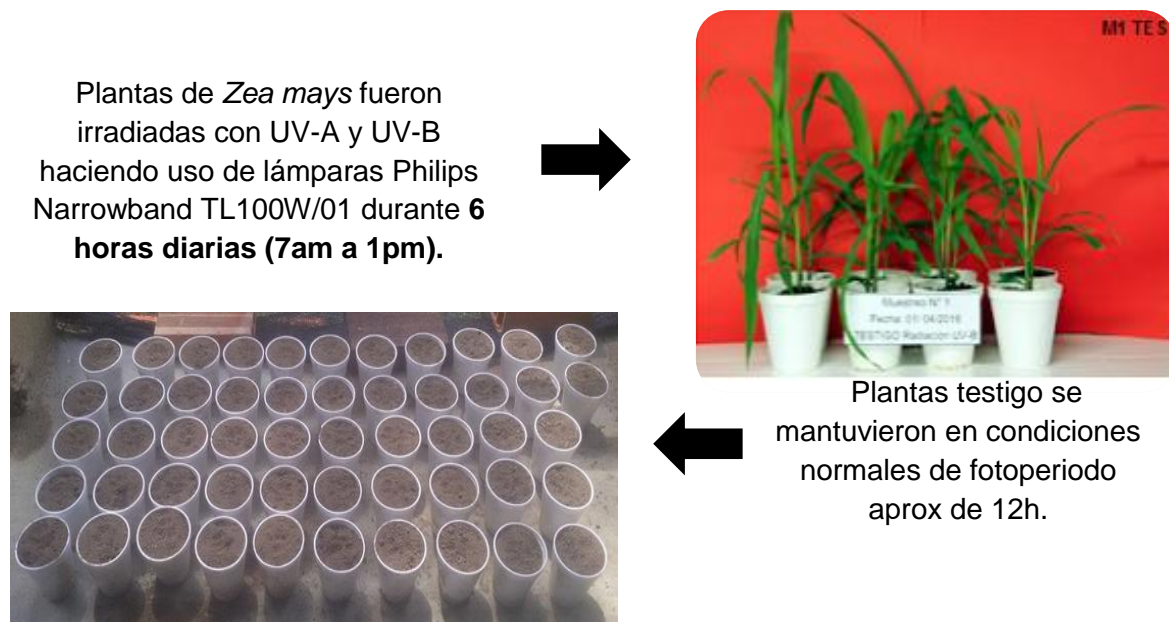
Por otra parte, se ha demostrado que dependiendo de la especie de planta y su metabolismo fotosintético otros efectos ambientales pueden modular la respuesta de la planta sobre la UV-A como por ejemplo las sequías (Déficit hídrico), ya que esto mejora el contenido de agua y/o la tasa fotosintética en las hojas. En lo que a UV-A respecta, la mayoría, de los estudios encontrados (muy pocos comparados con UV-B) recomiendan seguir investigando este aspecto para llenar la falencia en información, con el fin de

poder establecer comparaciones como por el ejemplo en la respuesta fisiológica de la planta con respecto a diferentes dosis de radiación UV-A.

3.3 METODOLOGÍA

Para la metodología, se siguió el modelo planteado para la radiación UV-B explicada con detalle en el inciso 2.3. A continuación en la figura 35 se plantea un resumen de la misma:

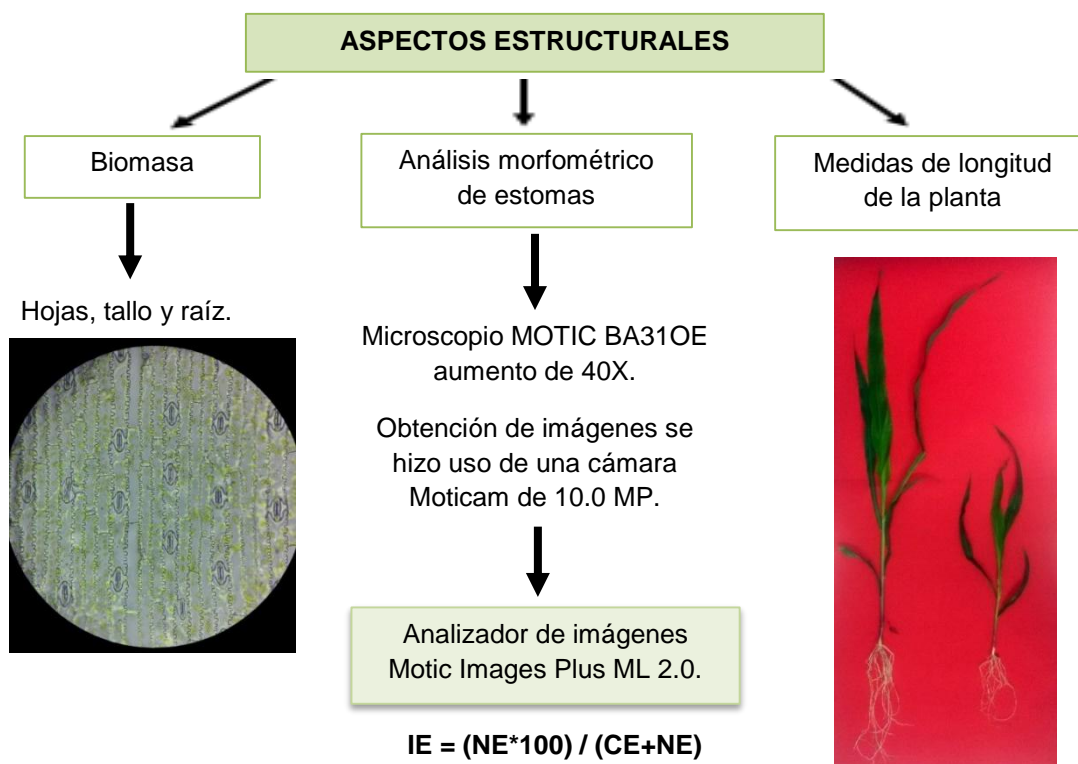
Figura 35. Siembra de semillas de *Zea Mays* y tratamiento UV (A y B) empleado.



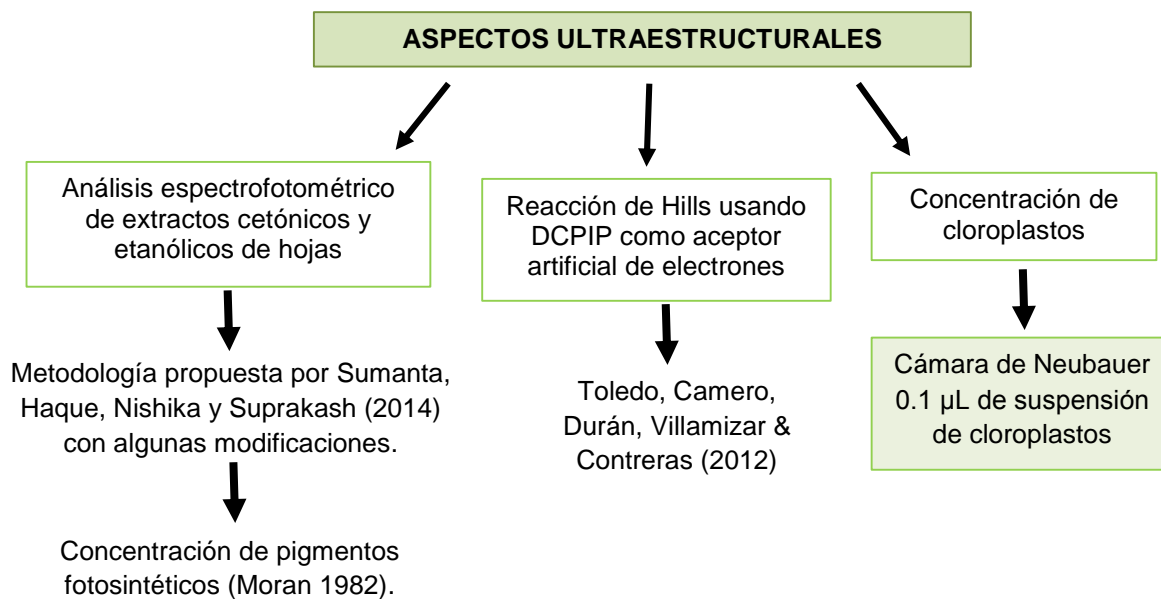
Fuente: Autor

Figura 36. Metodología empleada para determinar los parámetros estructurales (a) y ultraestructurales (b).

a).



b).



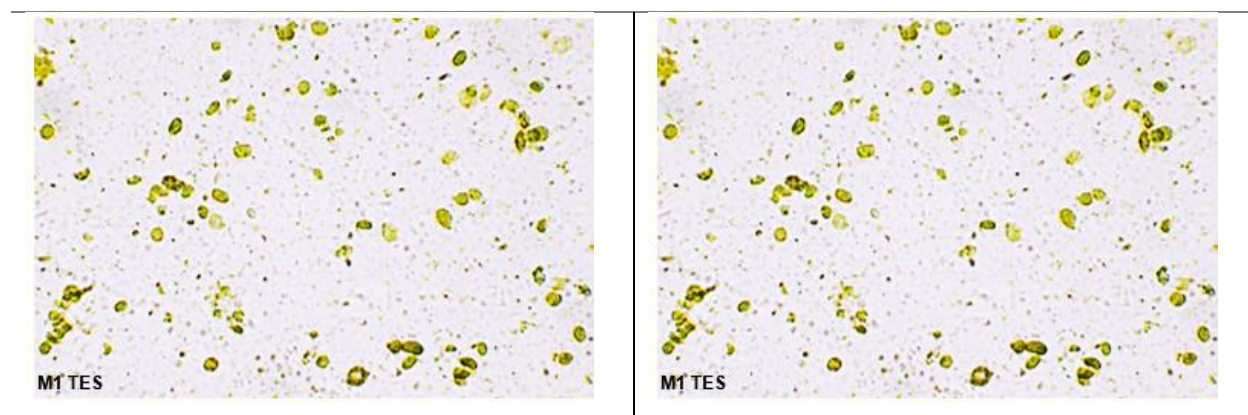
Fuente: Autor

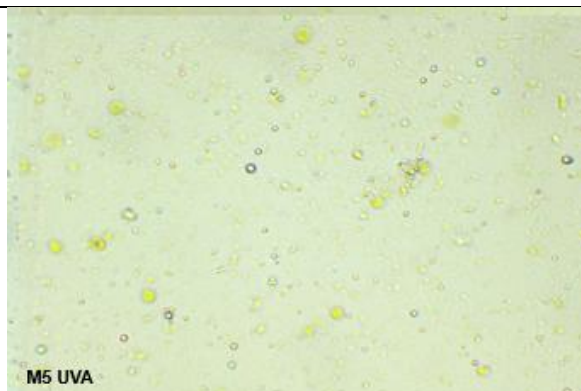
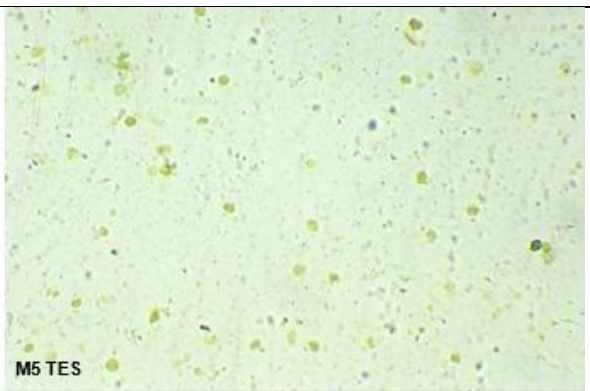
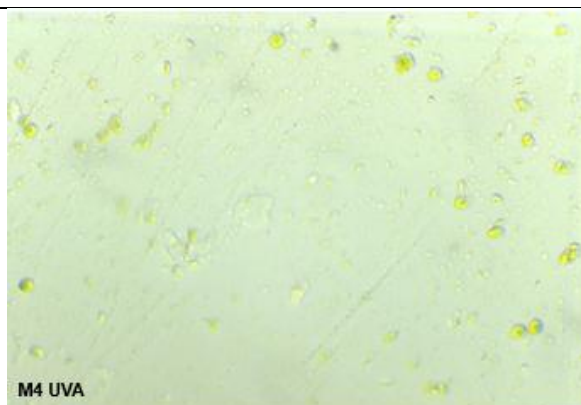
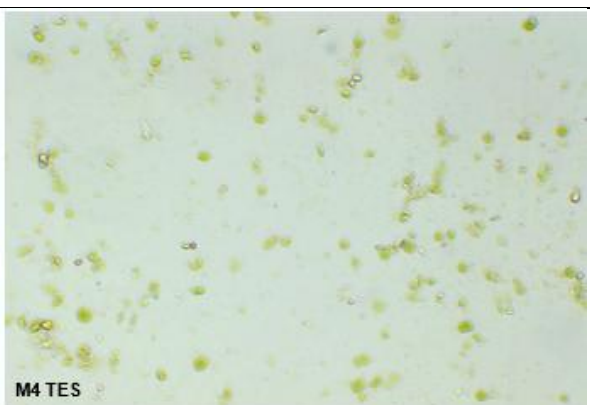
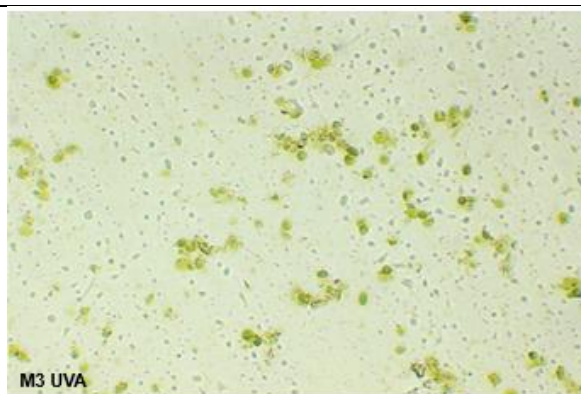
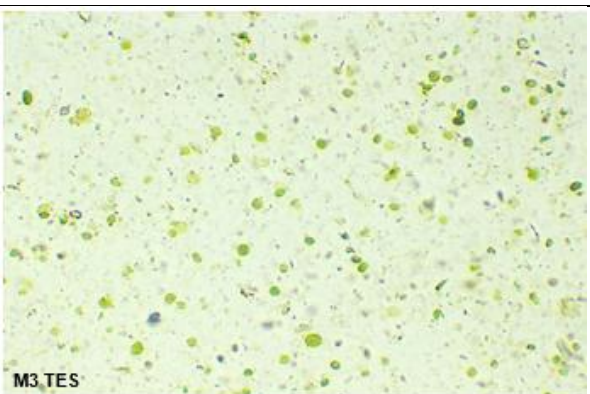
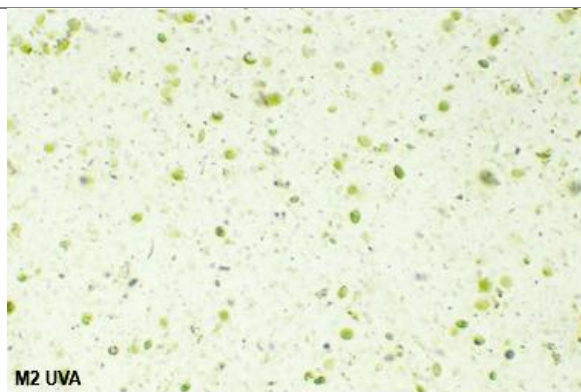
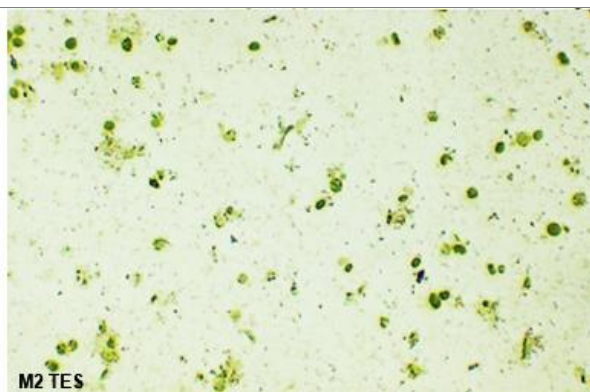
3.4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.4.1 Aspectos Ultraestructurales:

3.4.1.1 Observación de cloroplastos. Los resultados comprueban la presencia de los cloroplastos en la solución, además se observa que tanto las plantas testigo como las irradiadas presentan una similaridad en la concentración de cloroplastos, con excepción de los muestreos 4 y 5 de plantas irradiadas, donde disminuye el número de cloroplastos presentes como se evidencia en el campo de observación (Figura 37). Esto puede deberse a que los cloroplastos de las células del mesofilo de plantas C4 están más expuestos a la radiación (por su posición estructural); por lo tanto los tilacoides se pueden afectar, teniendo repercusiones sobre el estado de los cloroplastos, como lo demostraron Turcsányi y Vass, (2000) y Vass, Turcsányi, Touloupakis, Ghanotakis, y Petrouleas (2002).

Figura 37. Cloroplastos aislados de plantas de maíz bajo radiación ultravioleta A y sus controles. Las imágenes fueron obtenidas a partir de una cámara Moticam de 10.0 MP, adaptada a un microscopio de contraste de fases MOTIC BA31OE a un aumento de 40X. TES (Control), UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).

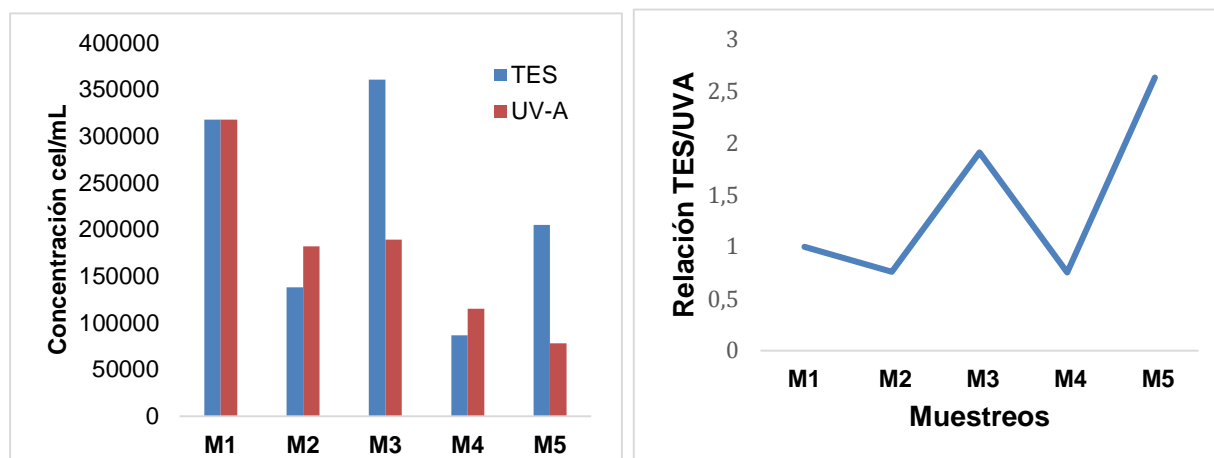




Fuente: Autor

3.4.1.2 Concentración de cloroplastos. Los resultados evidencian una variación en la concentración de los cloroplastos de las plantas testigo sin una tendencia a lo largo de los muestreos, esto pueda deberse a los factores ambientales de la fecha, en los cuales se presentaban días con nubosidad variable (IDEAM, 2016). Por su parte se evidencia el impacto que se genera a nivel de los cloroplastos en plantas sometidas a la radiación, cuya tendencia es disminuir la concentración de los mismos a lo largo de los muestreos. Con respecto a esta variable, de acuerdo al estudio realizado por Salama, Al Watban y Al-Fughom (2011) los resultados obtenidos se deben a un daño ontogénico en los cloroplastos que se evidencia en el desarrollo fisiológico de las hojas a medida que pasan los muestreos y a un déficit en la síntesis de pigmentos.

Figura 38. Efecto de la UV-A sobre la concentración de cloroplastos. **(a)** Concentración de cloroplastos (Número de células/mL de solución) presentes en la suspensión obtenida a partir de hojas de maíz de plantas tratadas con UV-A y sus respectivos controles para cada muestreo. **(b)** Relación entre la concentración de cloroplastos presentes en muestras de plantas irradiadas con UV-A y sus controles. M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

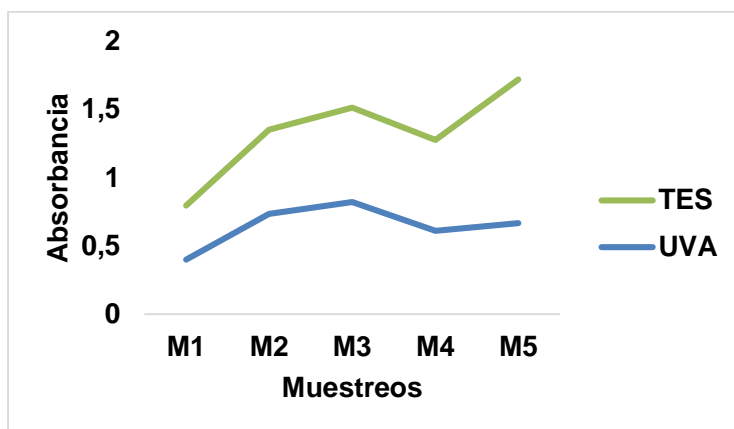
Por otra parte, la relación presentada en la figura 38b evidencia que aunque la concentración de cloroplastos es variable a lo largo de los muestreos, a nivel general las

plantas control presentan una mayor concentración de cloroplastos con respecto a las irradiada, salvo muestreo 2 y 4 en los que pudo haber interferido una mayor radiación natural comparado con los días nublados de los muestreos 1, 3 y 5.

3.4.1.3 Actividad de la cadena transportadora de electrones. Reacción de Hills. Por medio de la reacción de Hills, es preciso establecer la eficiencia de la cadena transportadora de electrones (CTe) en cloroplastos aislados, mediante la decoloración del DCPIP, entendiéndose que a menor intensidad del color, será menor la absorbancia y mayor la transmitancia. Al haber una menor absorbancia mayor será la eficiencia en la CTe, lo anterior permite un diagnóstico de la respuesta de las plantas frente a variaciones ambientales.

Estudios que expliquen el efecto de la UV-A sobre el efecto de la cadena transportadora de electrones en plantas son limitados, a excepción de uno, que afirma que al menos la mitad del daño causado por la radiación solar entre 290 y 400 nm son inducidos por la radiación UV-A (Turcsányi & Vass, 2000) (Estudio realizado en plantas C3). No obstante, los resultados de la presente investigación, evidencian que al menos en plantas C4, la cadena transportadora de electrones de plantas irradiadas con UV-A trabaja más eficazmente, comparada con sus respectivos controles dado que reducen mejor el DCPIP, sin presentar mayor variabilidad en las respuestas en cada muestreo (Figura 39).

Figura 39 Efecto de la radiación UV-A sobre la capacidad de reducción del aceptor final en la cadena transportadora de electrones en hojas de plantas de maíz. TES (Control), UV-A (Irradiadas con UV-A). M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

Lo anterior puede deberse a un efecto colateral a nivel de los flavonoides, los cuales se activan con la presencia UV-A mejorando el funcionamiento de los pigmentos colectores de luz, además puede estar relacionado con lo propuesto por Panagopoulos, Bornman, y Björn (1990) quienes afirman que dicha radiación es utilizada por la planta para los procesos fotosintéticos.

Sin embargo, los resultados obtenidos refutan a los obtenidos por Turcsányi y Vass (2000) quienes afirman que la UV-A induce una pérdida de los centros PSII en los que se producen 2 aceptores de electrones de quinona, tanto así que según los autores el daño es similar al causado por la radiación UV-B, no obstante dicha investigación fue realizada en plantas C3, lo cual pueda llevar a rectificar la capacidad evolutiva de las plantas C4 para adaptarse a ambientes hostiles.

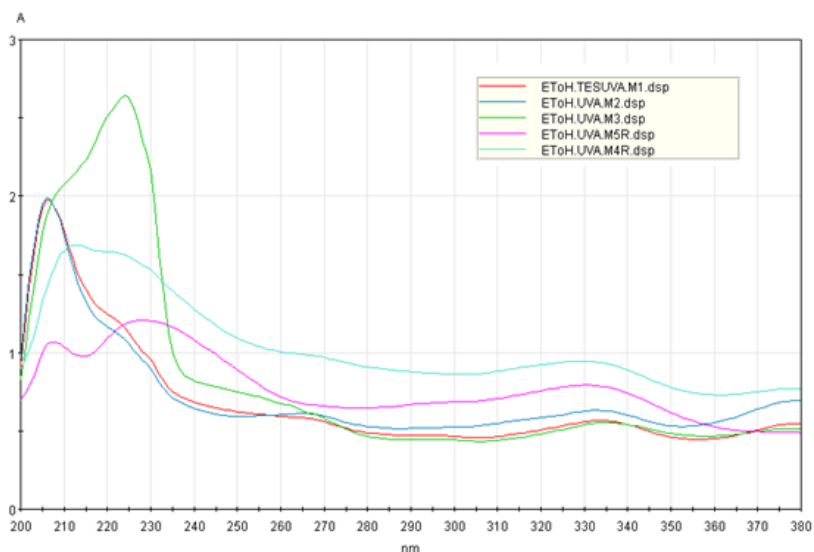
Es importante considerar que en plantas C4 estos análisis permiten hacer un acercamiento general a lo que sería el efecto de la radiación UV-A sobre la cadena transportadora de electrones, teniendo en cuenta que puede ser variable el tipo de cloroplasto aislado en cada caso (De las células del mesófilo con PSII o de la vaina del

haz sin PSII), esto pueda explicar por qué hay mayor eficiencia en la cadena transportadora de plantas irradiadas con respecto a testigo siendo las testigo sobresalientes en la concentración de cloroplastos, además, este tipo de ensayos permite establecer que en plantas C4 no es preciso determinar la efectividad fotosintética en la planta basándose en la concentración o el número de cloroplastos, sino en la efectividad de la cadena transportadora de electrones de cloroplastos aislados con presencia de PSII (Cloroplastos de las células del mesófilo). Cabe resaltar que no se encontraron estudios específicos sobre la implementación de la reacción de Hills sobre plantas C4 para analizar efectos ambientales sobre la cadena transportadora de electrones, salvo el efecto general de la UV-A en plantas de maíz. En general, los estudios del efecto de la UV-A en plantas son limitados.

3.4.1.4 Pigmentos, Medición de espectros de absorción (Compuestos Fenólicos): Investigaciones previas afirman que la radiación UV-A induce la acumulación de flavonoides epidérmicos (Morales et al., 2010), es así como se espera que cambios en la absorbancia en extractos de estos, den un aviso de la presencia y/o cambios en la concentración de los mismos. Según Lock (1997) los compuestos fenólicos exhiben 2 bandas de absorción en la región del UV/VIS; la banda I aparece en un rango de los 300 a 385 nm (representativa del anillo A), y la banda II (correspondiente al anillo B) aparece entre los 225 y 285 nm.

Considerando lo anterior y basados en lo observado en la figura 40, entre los 200 y 380 nm, se evidencia que la UV-A induce un aumento en la absorbancia de pigmentos (concentración). Lo anterior puede inferir la presencia flavonoides, atribuyendo dicha respuesta a la presencia de antocianinas o sus precursores teniendo en cuenta el estudio realizado por Tsormpatsidis et al. (2008) quienes demostraron que bajo niveles de estrés UV, la planta acumula antocianinas al desviar la energía producida por la fotosíntesis para sintetizar estos compuestos y así protegerse de los dañinos rayos UV.

Figura 40. Espectro de absorción de extractos etanólicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-A y su respectivo testigo. EtOH (Extracto etanólico), TES (Control), UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17), R (Repetición).



Fuente: Autor

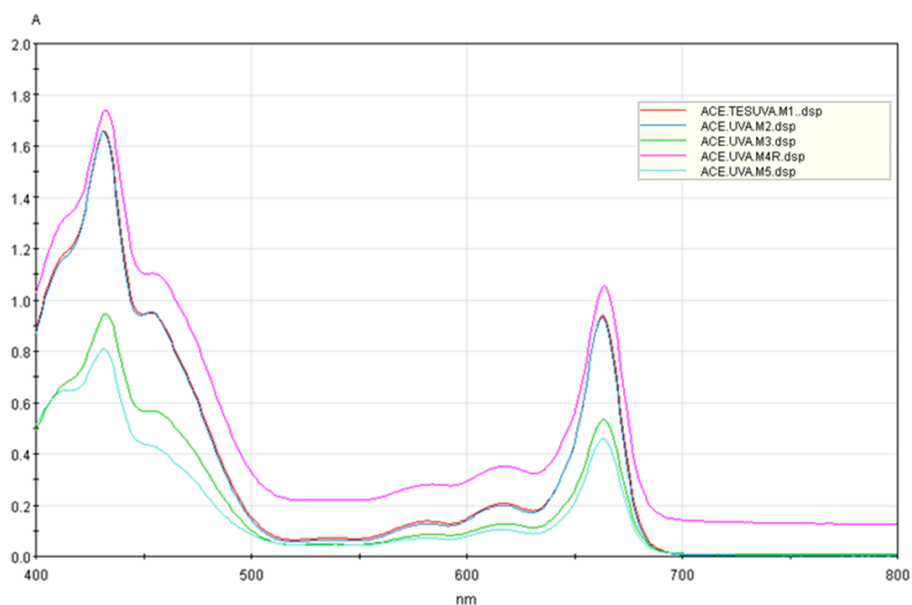
Así mismo los resultados obtenidos por Gómez & Jiménez (2011) comprobaron que la radiación UV-A induce una alta producción de antocianinas las cuales se almacenan en las vacuolas, que concuerda con lo que se encontró en esta investigación al observar modificaciones en las absorbancias de la región UV del espectro electromagnético. Sin embargo, pese a los esfuerzos de la planta por sintetizar compuestos fitoprotectores, al exponerse cada vez más a la radiación UV-A se observa una disminución en las absorbancias de muestreo 4 y 5, evidenciando un daño ultraestructural, como se puede visualizar en la figura 40. Lo cual parece indicar que los mecanismos de protección tienen un límite que puede depender de la ontogenia de la planta y de la cantidad de radiación a la que ésta permanece expuesta.

Clorofilas: Son pocos los estudios que enfatizan en el efecto de la UV-A sobre la concentración de pigmentos de tipo clorofilas en plantas de maíz, los mencionados anteriormente, comprobaron el efecto productor de radicales libres de la misma sobre la planta (ver enciso 3.2.1.2). Lo anterior pueda estar relacionado con la elevada producción

de antocianinas que se dispara tal vez para poder sobre llevar dicho efecto dañino, lo cual se corrobora con lo propuesto por Neill y Gould (2003) citado por Tsormpatsidis et al. (2008) quienes afirman que tras la exposición UV-A se acumulan antocianinas en la epidermis de la hoja. Dicha acumulación puede causar un efecto sombrilla sobre la clorofila disminuyendo la luz disponible para que esta pueda realizar sus funciones fotosintéticas. A pesar de que lo anterior pueda parecer un efecto protector de las antocianinas sobre las clorofilas frente a la exposición UV éstas últimas puedan verse inhibidas funcionalmente.

Los resultados de la presente investigación, evidencian un comportamiento variado de las clorofilas pero que puede estar relacionado con lo expresado anteriormente. Al parecer, el efecto protector de los compuestos fenólicos, permite que al inicio de la exposición de las plantas a la radiación UV-A, la concentración de la clorofila permanezca igual que en el primer muestreo, como se observa en el muestreo 2 de la figura 41. No obstante en el muestreo 3 la absorbancia disminuye notoriamente lo cual pueda relacionarse con el efecto sombrilla generado por los compuestos fenólicos, los cuales se disparan en este muestreo pero que para el muestreo 4 y 5 disminuyen paulatinamente (Figura 40), lo que coincide con un aumento en la concentración de clorofilas (Figura 41), finalmente para el muestreo 5 tanto compuestos fenólicos como pigmentos fotosintéticos parecen inhibir su síntesis y disminuir su actividad (Figura 40 y 41 respectivamente), evidenciado en una mínima absorbancia de 0.52 nm en el caso de clorofilas.

Figura 41. Espectro de absorción de extractos cetónicos de plantas de maíz expuestas a radiación UV-A y su respectivo testigo. ACE (Extracto cetónico), TES (Control), UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

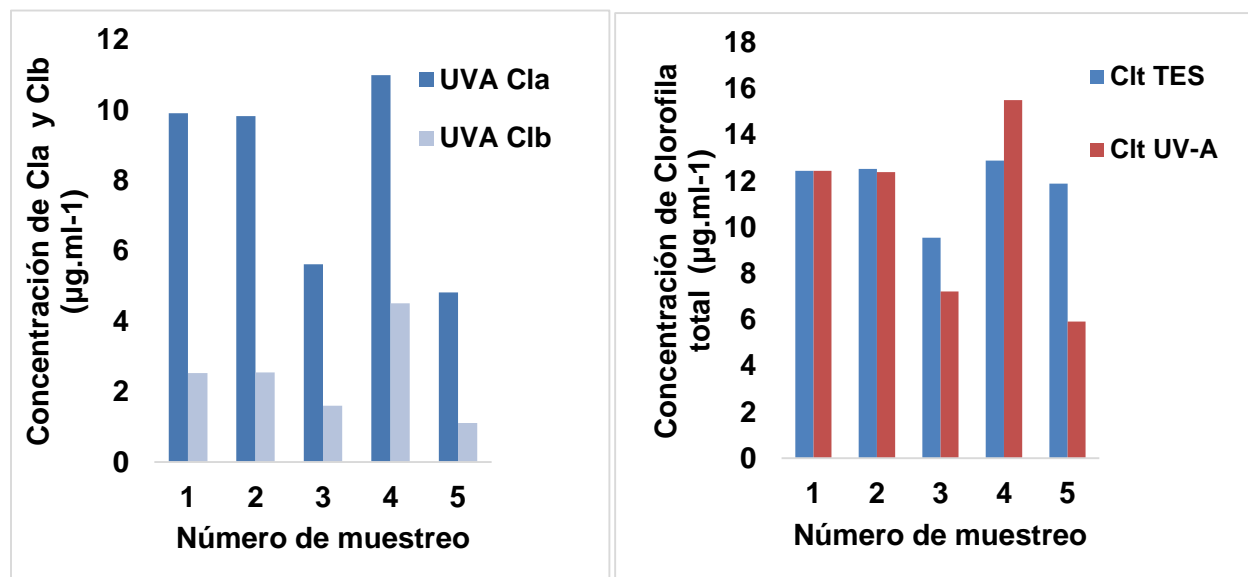
Lo propuesto anteriormente lleva a la conclusión de que al no ejercerse la actividad protectora de los compuestos fenólicos presentes (posiblemente antocianinas), los pigmentos fotosintéticos llegan al punto denominado “oxidación fotoquímica” en el que la radiación provoca blanqueamiento de la clorofila al atacar los dobles enlaces de la cadena fitol de la molécula como lo manifiestan Zvezdanović y Marković (2008) en radiaciones de tipo UV-A y UV-B.

3.4.1.5 Concentración de pigmentos clorofila a y b. El contenido de clorofila en las hojas es un parámetro muy útil para evaluar el estado fisiológico de las plantas, y cómo responde frente a diversos factores ambientales. Como se mencionó en el inciso anterior, las plantas de maíz presentan un comportamiento variado en la concentración de pigmentos fotosintéticos frente a la radiación UV-A. En la figura 41 se puede observar a modo general que se presentan una mayor concentración de clorofila a con respecto a clorofila b, debido a que estructuralmente las plantas de maíz, (por ser una planta C4 tipo

NAD-ME) carecen de PSII en donde abunda la clorofila b, (Casierra-posada, 2007). Las variaciones en la concentración de la clorofila en las plantas testigo se pueden relacionar con las diferencias en luminosidad y edad de la planta, considerando que durante el tiempo de desarrollo del presente trabajo se presentaron días sombreados que pudieron limitar la capacidad fotosintética de plantas testigo, “Dado que los pigmentos fotosintéticos se pueden alterar a lo largo del día como consecuencia de la oferta ambiental” así como lo afirma Casierra-posada (2007) así mismo Mitrakos (1959) citado por Casierra-posada (2007) reportó que la intensidad de la luz durante un periodo de 24h influye notoriamente sobre la síntesis y la destrucción de la clorofila, lo cual puede justificar los resultados obtenidos para clorofila total evidenciados en la figura 40b que a partir del muestreo 3 presenta variación en la concentración del pigmento.

El comportamiento de la clorofila en el muestreo 3 parece coincidir con lo reportado por Steyn et al. (2002), citado por Tsormpatsidis et al. (2008) quienes afirman que la acumulación de antocianinas en la epidermis de la hoja puede causar un efecto de sombrilla conduciendo a una reducción de la luz disponible para la clorofila y por ende reduciendo su síntesis, considerando que para dicho muestro, los extractos etanólicos presentaron la mayor absorbancia (Figura 38) y por el contrario, la concentración de clorofila total disminuyó, lo anterior como un mecanismo de fitoprotección del aparato fotosintético.

Figura 42. Efecto de la UV-A sobre la concentración de pigmentos fotosintéticos. **(a)** Concentración de clorofila a y clorofila b de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-A. **(b)** Concentración de clorofila total de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-A. TES (Control), UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

Lo anterior refleja la sensibilidad de la planta y su respuesta a factores externos como internos, evidenciando la capacidad de adaptación de la misma para asegurar su perdurabilidad, sin embargo, es notorio que el aparato fotosintético llega a un límite en el que la planta no es capaz de sintetizar productos de protección o su capacidad fisiológica se ve alterada.

3.4.2 Aspectos estructurales. Son parámetros que permiten evidenciar directamente los efectos ambientales sobre las mismas. Así, despigmentación de las hojas y pérdida de biomasa permiten inferir cambios en los pigmentos fotosintéticos; disminución en la longitud de la hoja manifiesta alteración en el rendimiento fotosintético así como

variaciones en los estomas que además conlleva a alteraciones en el intercambio gaseoso, lo anterior por citar algunos ejemplos.

3.4.2.1 Longitud de la planta

Figura 43. Fotografía de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (control) con respecto a plantas irradiadas con UV-A. TES (Control), UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).

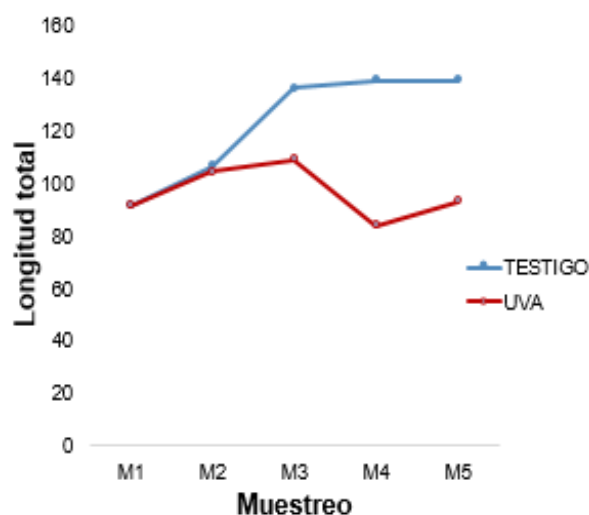




Fuente: Autor

Teniendo en cuenta lo anterior, la figura 43 evidencia cualitativamente la alteración de las plantas como respuesta a la exposición UV-A a pesar de que no pareciera ser tan marcada, si se comparara con dicho comportamiento frente a radiación UV-B (Ver capítulo 2). Así mismo un análisis cuantitativo permite evidenciar que para el último muestreo, las plantas irradiadas se mantuvieron con la longitud del primer muestreo al aumentar solo un 1,8% la tasa de crecimiento, por el contrario, plantas testigo crecieron un 52,2% con respecto al muestreo 1 (Figura 44).

Figura 44. Longitud total (cm) de plantas de maíz en condiciones de luz ambiente (Testigo) con respecto a plantas irradiadas con UV-A. UV-A (irradiadas), M1 (Muestreo día 1), M2 (Muestreo día 5), M3 (Muestreo día 9), M4 (Muestreo día 13), M5 (Muestreo día 17).



Fuente: Autor

Algunos autores como Tsormpatsidis et al. (2008) consideran que esta disminución en el crecimiento de plantas que han sido expuestas a altos niveles de luminosidad, se deba a dos factores: el primero tiene que ver con la acumulación de antocianinas como respuesta fitoprotectora, lo cual en algún momento causa un efecto de sombra sobre los pigmentos fotosintéticos (clorofila) que sería el segundo factor, ya que al parecer, la planta desvía la energía producida por la fotosíntesis para sintetizar metabolitos

secundarios como antocianinas y protegerse de los rayos UV para prolongar su existencia.

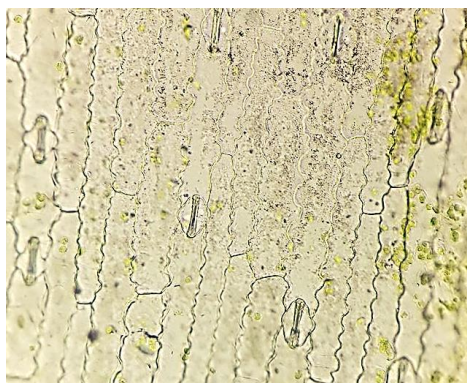
Lo anterior puede llevar a una reducción del rendimiento fotosintético, reflejado en la disminución del crecimiento de la planta. Esto concuerda con los resultados presentados en la presente investigación reflejado en los espectros de absorción de extractos etanólicos, concentración de la clorofila y longitud de la planta, evidenciando una respuesta en cadena de los parámetros fisiológicos de la planta.

3.4.2.2 Estado de los estomas. Determinar el número de estomas por unidad de área o los cambios a nivel del tamaño de las células guarda, que controlan la apertura del poro estomático, permite evaluar cambios a nivel fisiológico en la planta como respuesta a variantes ambientales. De modo que, el conocimiento de las características del estoma es una herramienta básica para determinaciones de eficiencias fisiológicas en plantas C4 como lo afirma Nieto y Jürgen (2005).

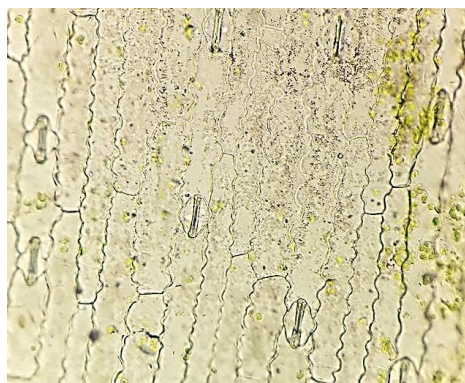
3.4.2.2.1 Análisis morfométrico. No existen estudios anteriores a la presente investigación que reporten específicamente el efecto de la radiación UV-A sobre la condición estomática en plantas C4, ya que las pocas encontradas evidencian principalmente efectos de temperatura y concentraciones de CO₂ sobre estas estructuras foliares. Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que la radiación UV-A no altera en mayor medida a los estomas, observándose claramente nada más que un pequeño hinchamiento en las células guarda de los estomas sometidos a la misma (Figura 45 y 46).

La respuesta observada en los estomas es de esperarse y se atribuye a un mecanismo de protección de la planta en el que ésta, cierra el poro estomático y evita daños en el interior, de manera que se atribuye la resistencia de los estomas a la UV-A, al metabolismo adaptativo propio de las plantas C4.

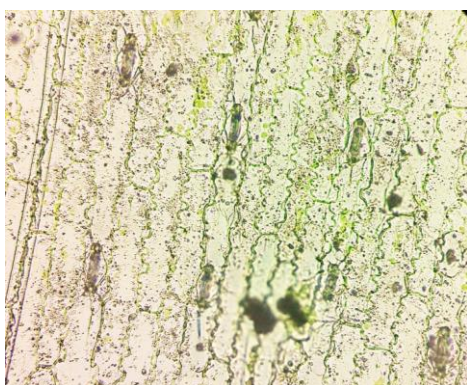
Figura 45. Microfotografías de hojas de maíz sometidas a radiación UV-A y sus respectivos testigos, mostrando la disposición y tamaño de los estomas (Aumento: 40X).



Muestreo 1 Testigo



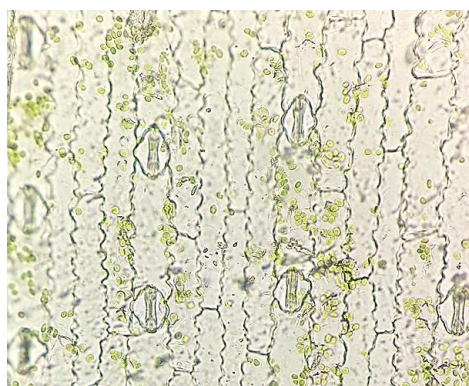
Muestreo 1 UVA



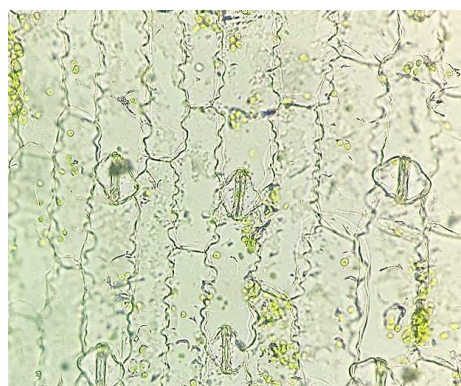
Muestreo 2 Testigo



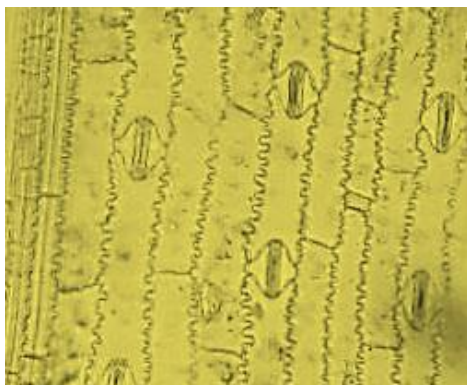
Muestreo 2 UVA



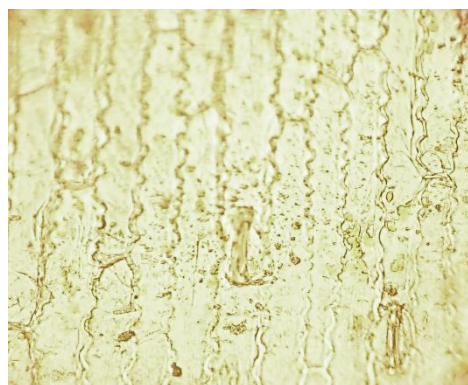
Muestreo 3 Testigo



Muestreo 3 UVA



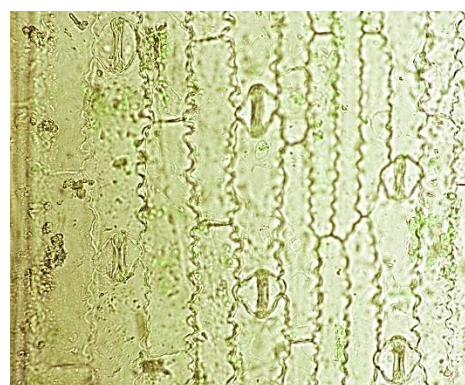
Muestreo 4 Testigo



Muestreo 4 UVA



Muestreo 5 Testigo

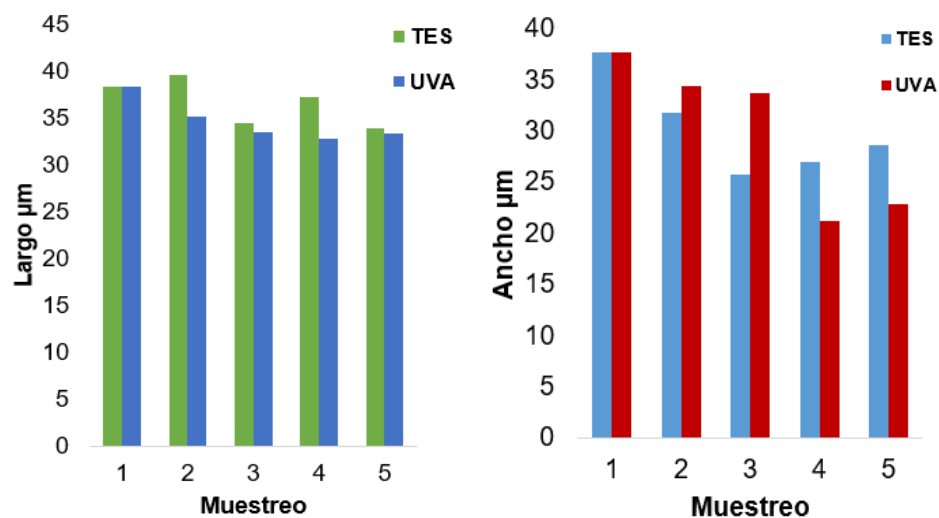


Muestreo 5 UVA

Fuente: Autor

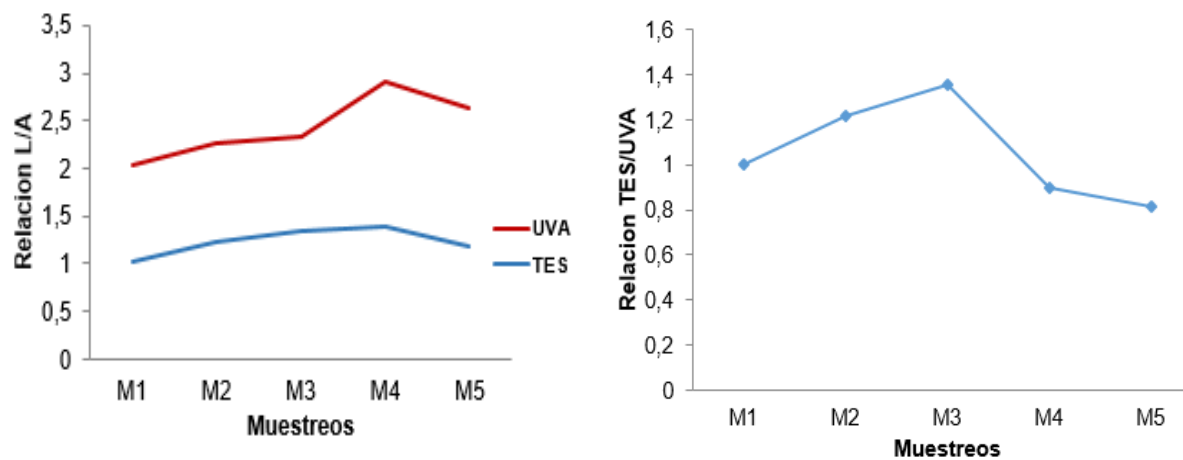
Pese a que las fotografías proporcionan cierta información con respecto al estado de los estomas, es indispensable establecer de manera cuantitativa la respuesta de los mismos a la radiación. De este modo, la figura 46a muestra los cambios en los estomas de las plantas control con respecto a las irradiadas, teniendo en cuenta su relación largo/ancho, observándose a nivel general un comportamiento similar tanto para plantas irradiadas como para plantas testigo, no obstante, en plantas irradiadas se observa un valor más alto para estos parámetros morfométricos (principalmente ancho como se observa Figura 46b), rectificando el efecto de hinchamiento de la UV-A sobre los estomas, lo cual pueda estar relacionado a un incremento en el volumen de los cloroplastos presentes en las células guarda de los estomas.

Figura 46. Largo y ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A y su testigo. M1 (Día 1), M2 (Día 5), M3 (Día 9), M4 (Día 13), M5 (Día 17).



Fuente: Autor

Figura 47. Relación largo/ancho de estomas de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A y su testigo. M1 (Día 1), M2 (Día 5), M3 (Día 9), M4 (Día 13), M5 (Día 17).



Fuente: Autor

3.4.2.2.2 Índice estomático: El índice estomático (IE) presentó una incidencia negativa por parte de la radiación UV-A, observándose un menor IE en plantas irradiadas, que, aunque no es muy marcado (no tenemos índices de referencia) se presenta con una variabilidad en los muestreos 2, 3 y 4 que puede estar relacionado con las variaciones ambientales como nubosidad-luminosidad que se presentó durante esa época del año (IDEAM, 2016) y que se corrobora con lo expresado por Casson et al. (2009) quienes afirman que el aumento de la cantidad de luz influye positivamente en los cambios en el número de estomas, siendo la luz una señal importante para que las células epidérmicas decidan su destino. Sin embargo a pesar de que no tenemos valores de referencia con los cuales podamos establecer una comparación, de acuerdo a los valores obtenidos se deduce un efecto nocivo a nivel de este parámetro como resultado de la radiación UV-A, que se evidencia además, en la densidad estomática obtenida, teniendo en cuenta que para el total de muestreos, las plantas irradiadas presentaron un promedio de 9 estomas por mm² y las plantas testigo un promedio de 13, 25 estomas por mm²

Tabla 7. Índice estomático de plantas de maíz irradiadas con UV-A y sus respectivos testigos.

IE	M1	M2	M3	M4	M5
TES	29.56	30.61	31.11	34.38	34.21
UV-A	26.40	24.24	31.43	26.67	28.13

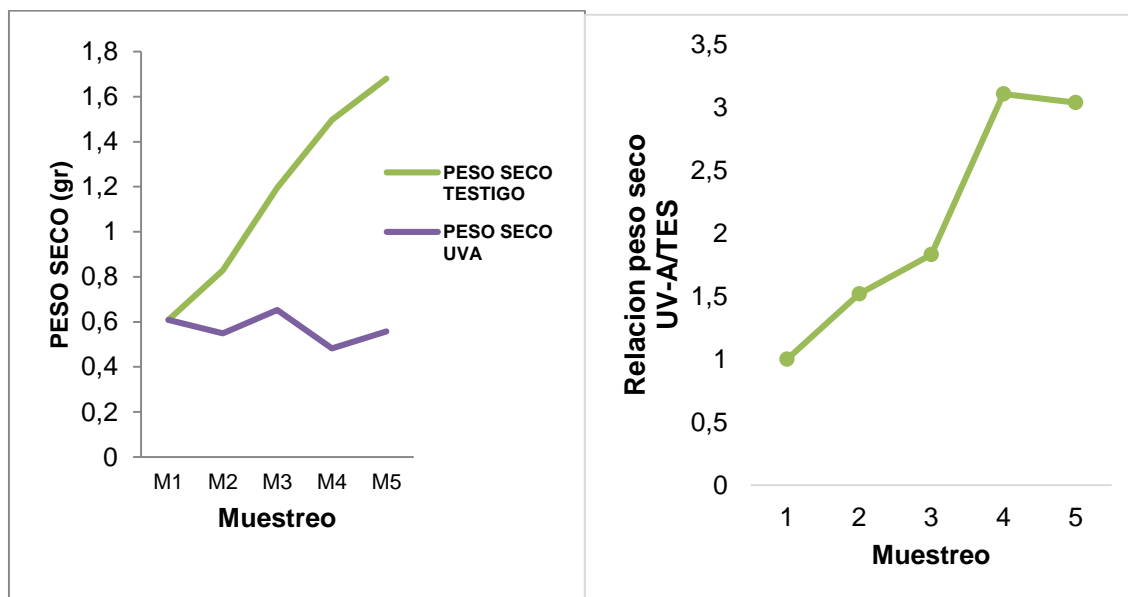
3.4.2.3 Biomasa: Las plantas ajustan su metabolismo en respuesta a los cambios en el Ambiente, optimizando el rendimiento bajo las nuevas condiciones, en este sentido, se puede tener consecuencias a nivel fisiológico en la medida que se puede acelerar o retrasar la producción de biomasa.

A pesar de que algunos estudios evidencian el efecto benéfico de la radiación UV-A en la activación de mecanismos de protección en la planta frente a la radiación UV-B, en el presente estudio se evidencio un daño notorio sobre la estructura foliar de la planta y la clorofila, lo que causó un efecto negativo en la producción de biomasa de la misma.

La figura 48 a y b, pone en evidencia que las plantas sometidas diariamente a radiación UV-A se vieron afectadas en su biomasa, teniendo en cuenta que para el último muestreo, plantas testigo obtuvieron un 64, 97% más de materia seca comparado con el muestreo 1, mientras que plantas irradiadas obtuvieron un valor de 8.07% más de materia seca comparado con el muestreo 1, lo anterior pueda deberse a las afecciones causadas en parámetros mencionados anteriormente como la concentración de la clorofila, densidad estomática, entre otros.

Por lo anterior se considera el maíz como planta C4 vulnerable, si se compara con especies como amaranto y sorgo, las cuales no se ven afectadas por radiación UV-A, como lo demostraron (Kataria, Guruprasad, Ahuja, & Singh, 2013) no obstante, esta comparación no es directa dado que las condiciones experimentales fueron diferentes, ya que ellos implementaron filtros UV y se basaron en valores de radiación UV-A ambiente, y en nuestro estudio se implementaron lámparas ultravioleta de exposición directa lo cual pudo acelerar e intensificar los efectos fisiológicos.

Figura 48. Efecto de la UV-A sobre la biomasa de plantas C4. **a)** Peso seco de plantas sometidas a radiación Ultravioleta UV-A y su respectivo testigo. **b)** Relación peso seco de plantas sometidas a radiación Ultravioleta UV-A y su respectivo testigo.



Fuente: Autor

Como se mencionó anteriormente, es importante considerar que existen pocos estudios sobre el efecto de la UV-A en la producción de biomasa vegetal y más específicamente en plantas C4, no obstante, algunas pocas investigaciones datan de un efecto negativo sobre la misma, sin embargo, dicha información predomina en plantas C3 como en el caso de algodón y trigo (Kataria et al., 2013) y Laurel (Bernal et al., 2014), en contraposición, en Roble, una especie C3 no se evidenciaron daños a nivel de la biomasa (peso total) pese a que si influyó sobre el crecimiento de la planta pero dicho efecto se vio compensado con el aumento en el volumen de hojas (Newsham, Greenslade, & McLeod, 1999), finalmente (Kataria et al., 2013) demostraron que plantas C4 como maíz y sorgo son menos sensibles frente a la radiación UV, si se les compara con plantas C3.

3.4.2.4 Sistema radicular

3.4.2.4.1 Longitud de la Raíz. De manera general la longitud de la raíz de plantas de maíz irradiadas con UV-A se vio notoriamente afectada, a partir del muestreo número 3, lo cual incidió notoriamente en la biomasa de la misma como se observa más adelante (Inciso 2.4.4.2).

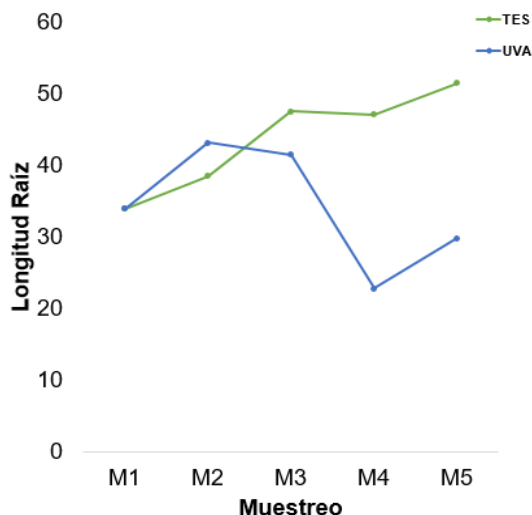
Figura 49. Fotografía de raíz de plantas de maíz tratadas con radiación UV-A (Derecha) y sus respectivos testigo (Izquierda).



Fuente: Autor

El efecto sobre la longitud de la raíz se ve reflejado en la medida que para el último muestreo (M5) raíces de plantas testigo habían crecido un 51,47% con respecto a M1, y raíces de plantas irradiadas por el contrario, decrecieron un 12,26% con respecto a M1.

Figura 50. Longitud de la raíz de plantas de maíz sometidas a radiación UV-A y su respectivo testigo.

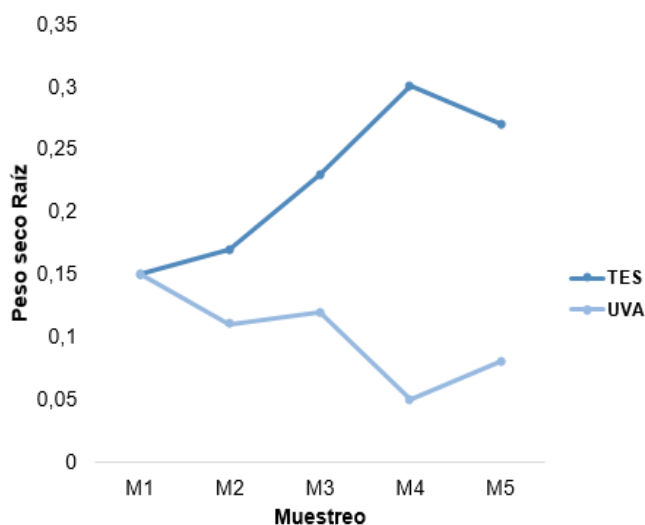


Fuente: Autor

Lo anterior pueda tener relación con un efecto directo de la radiación UV-A sobre las auxinas de la planta, considerando lo comprobado por Klein (1967) y Miura, Hashioto y Yamaguchi (1974) quien al exponer plantas de avena a UV-A vieron afectada la división celular, la ampliación celular y la diferenciación celular, como consecuencia de la inhibición de la auxina en la planta.

3.4.2.4.2 Biomasa de la Raíz. Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores sobre la longitud de la raíz, es de esperarse un efecto nocivo y evidente sobre la biomasa de la misma. Así lo comprueban los resultados obtenidos en la figura 50. De esta manera, plantas testigo obtuvieron un 67,97% de peso seco más para el muestreo 5 comparado con el muestreo 1 y plantas irradiadas sólo un 7,79%.

Figura 51. Biomasa de la raíz de plantas de maíz sometidas a radiación UV-A y su respectivo testigo.



Fuente: Autor

Lo anterior genera preocupación ya que esta respuesta negativa frente a la radiación, genera un desbalance en el ciclo del carbono, teniendo en cuenta los servicios ambientales que presta el maíz, considerando lo expresado por Espinoza et al. (2012), citado por Solorio, Martínez, López, López, & Arteaga (2016), quienes afirman que el cultivo de maíz por medio de la fotosíntesis asimila el CO₂ atmosférico, para convertirlo en carbohidratos y fijarlo en sus estructuras para aumentar su biomasa. Solorio et al. (2016) comprobaron además que los sistemas de cultivo de maíz nativo superan las capacidades de fijación de carbono de los sistemas forestales, por lo que se constituyen en adecuados sumideros de carbono, por lo cual plantear estrategias de mitigación de sustancias que afectan la capa de ozono y establecer estrategias de cultivo teniendo en cuenta altitud y latitud son de vital importancia.

3.5 CONCLUSIONES

En la naturaleza, las plantas coexisten en una estrecha relación con los factores ambientales (agua, aire y suelo), quienes determinan su desarrollo y comportamiento, siendo la luminosidad uno de los factores determinantes en su ciclo biológico.

Lo anterior guarda relevancia si se tiene en cuenta que en los últimos años, la incidencia de los niveles de radiación es mayor en nuestro planeta, así, la radiación de tipo UV-A ha influido de manera importante en las respuestas fisiológicas de algunas plantas como lo demuestran algunos estudios: Ibdah et al. (2002) (activando mecanismos de fitoprotección); Zvezdanovic et al. (2009) (efectos dañinos sobre tilacoides); Joshi, Biswal, & Biswal (1991) (formación de radicales libres); Gómez-Zeledón y Jiménez (2011) (producción de antocianinas). Por citar algunos ejemplos.

La presente investigación pudo corroborar que las plantas de maíz pese a su metabolismo C4, en algún punto son vulnerables incluso a la radiación UV-A que apoyándonos en la literatura, se pensaba era menos nociva para la planta, no obstante entender los mecanismos de protección de la planta para solventar los efectos de la misma y la articulación fisiológica de sus componentes para ello, es fascinante.

En primera medida, la anterior afirmación se basa en los resultados obtenidos en parámetros ultraestructurales como la concentración de los cloroplastos, los cuales se vieron disminuidos debido al sometimiento UV-A. Sin embargo de manera sorpresiva, la cadena transportadora de electrones trabajó de manera más eficiente en plantas bajo UV-A comparadas con plantas control, lo cual permite concluir que la estructura intrafoliar de plantas C4 es un importante mecanismo de adaptación, teniendo en cuenta que la poca disponibilidad de centros PSII en los cloroplastos, contribuye a tener respuestas neutrales frente a la UV, si se tiene en cuenta que son estos centros fotosintéticos los primeramente afectados por la radiación, como ocurre en plantas C3. Esto se comprende partiendo de la afirmación de Turcsányi y Vass (2000) de que “la eficacia de la luz UV-A en la inhibición del transporte de electrones de PSII excede la de la luz visible 45 veces sobre la base de energía igual y 60 veces en base al número igual de fotones, respectivamente”, lo cual indica el efecto nocivo de la radiación, pero que en este caso, comprendiendo la fisiología C4 no fue importante, como lo indican los resultados. No obstante, basados en lo anterior, es importante comprender el porque se observó mejora en plantas irradiadas, en este caso pudo jugar un papel importante la elevada síntesis de compuestos fenólicos que, teniendo en cuenta la literatura podrían ser antocianinas, las

cuales se disparan con la UV-A y en este caso fue transcendental en la mejora de la respuesta durante los primeros momentos de exposición UV, concordando con Tsormpatsidis et al. (2008).

La presente investigación permitió evidenciar como se articulan fisiológicamente parámetros como síntesis de compuestos fenólicos (como se observó en las absorbancias de extractos etanólicos (antocianinas)) con la elevada concentración de clorofila a con respecto a clorofila b y el efecto sombrilla que ejercen las primeras sobre las segundas. Así mismo, parámetros estructurales como la disminución en el peso seco, podría ser un reflejo de la respuesta observada en la clorofila, una disminución en la longitud de la planta y el estado radicular. Por su parte la radiación UV-A no ejerce ningún efecto sobre la condición estomática. No obstante, pese a que la UV-A resalta la eficiencia de la cadena transportadora de electrones y la producción de antocianinas (lo cual es favorable) esta respuesta no se mantiene en el tiempo, reafirmando el fotodaño. Desde un panorama global, atendiendo la importancia del proceso fotosintético a nivel ecológico, si tenemos mayores niveles UV-A, tendremos plantas menos eficientes fotosintéticamente y con ello, las consecuencias bioquímicas que acarrearía a nivel ecosistémico, considerando que las plantas son la base de la cadena trófica y las productoras esenciales de nuestro planeta.

4. CONCLUSIONES GENERALES

Las plantas son la base fundamental para la vida, ya que actúan en nuestro planeta como refrigerantes naturales al captar el CO₂ el cual utilizan para llevar a cabo sus procesos metabólicos, son retenedoras de agua, ayudan a determinar las características climáticas de los ecosistemas, proveen albergue para otro tipo de organismos, contribuyen al sostenimiento del suelo evitando la erosión, son productoras de energía, por último y no menos importante, gracias a ellas es posible respirar oxígeno libre, sin el cual las condiciones de vida serían inaceptables. Por lo anterior pensar en un mundo sin plantas sería asegurar la extinción masiva de las especies aerobias (la mayor parte de los seres vivos de nuestro planeta), lo cual acarrearía un desequilibrio ecológico indeleble.

Teniendo en cuenta las condiciones a las cuales nuestro planeta se ha sometido como resultado de las acciones antropogénicas, uno de los factores más afectados ha sido nuestra atmósfera, de modo que se ha conseguido destruir de gran manera la preciada capa de ozono, lo cual ha ocasionado el incremento de radiación UV-A y UV-B y que a pesar de los esfuerzos por minimizar dichos efectos, la perdurabilidad en la estratosfera de los contaminantes que causan dicho fenómeno, es considerable, por lo cual las consecuencias son acusadas y se espera continúen produciendo cambios en la química atmosférica.

A pesar de que en la naturaleza, los seres vivos se han adaptado para sobrevivir en ambientes no tan favorables, es importante considerar que como organismos vivos existen fenómenos que pueden limitar los procesos biológicos. Las plantas C₄ se han mostrado como seres de gran adaptabilidad a ambientes hostiles como altas temperaturas o luminosidad. El presente trabajo permitió comprobar que esta radiación afecta notoriamente las plantas C₄, especialmente la radiación UV-B la cual altera los procesos a nivel de la cadena transportadora de electrones, al inhibir la acción reductora del DCPIP, afecta además la concentración de los pigmentos fotosintéticos y la biomasa.

Por su parte la radiación UV-A, activa la concentración de antocianinas, lo cual evidencia una mejora en la cadena transportadora de electrones, caso que atribuimos al efecto sombrilla que ejercen las primeras sobre los pigmentos fotosintéticos coadyudando a un mejor rendimiento energético. No obstante, considerando las respuestas obtenidas para los muestreos posteriores se infiere que pese a los esfuerzos de la planta por contrarrestar el estrés, el daño es inevitable, sin embargo haciendo una comparación entre plantas sometidas a UV-B y plantas bajo la influencia de UV-A sin duda la primera causa un porcentaje de fotodaño mayor en la planta.

Desde una cosmovisión ecológica, los resultados obtenidos llevan a indagar sobre que nos deparan los próximos años en la vida en la tierra si no se establecen estrategias radicales de preservación de nuestra atmósfera, ya que por ejemplo, si las plantas pierden su capacidad fotosintetizadora, pensaríamos en un mundo con más concentración de CO₂ es decir se agudizarían los efectos del cambio climático, pensar en un mundo bajo condiciones anóxicas, sería imaginar extinción masiva de especies que no se adapten al cambio y con ello un desequilibrio ecológico sin precedentes, un mundo en el que las plantas pierden su capacidad de retener agua sería imaginar el truncamiento de ciclos biogeoquímicos considerando por ejemplo la transpiración como eje del ciclo del agua.

De esta manera, es importante que se sigan realizando estudios ecofisiológicos en plantas para tener una idea del comportamiento de las mismas frente a los procesos del deterioro de nuestro ambiente, que permitan a los gobiernos e investigadores en el tema, replantear estrategias de mitigación de la contaminación ambiental, considerando que en la naturaleza todos los factores tanto bióticos como abióticos trabajan articuladamente bajo un único fin: mantener el equilibrio ecológico de nuestro planeta.

RECOMENDACIONES

Nuestro planeta necesita sin lugar a dudas que se tomen medidas de mitigación de los impactos ambientales, teniendo en cuenta que diariamente la humanidad esta afectando los procesos ecológicos de un planeta al cual le costo años desarrollarlos. Suelo, agua y aire se han visto alterados y con ello los seres asociados a cada uno, es por lo tanto necesario que se sigan realizando investigaciones que permitan vislumbrar los efectos de las alteraciones ambientales sobre los procesos ecofisiológicos de los seres vivos y sus efectos indirectos sobre otros procesos a nivel ecológico.

Nuestra atmosfera es cada vez más sensible a la contaminación que ejercemos sobre ella. Los niveles de radiación solar son cada vez más nocivos y es preciso establecer medidas de manejo. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en nuestra investigación, se recomienda establecer estudios del mismo contexto que evidencien la respuesta ecofisiológica de plantas C3 y CAM frente al aumento de la radiación UV-A y UV-B. Asi mismo es importante investigar de qué manera responde la planta si se irradiara simultáneamente con las dos radiaciones UV-A y UV-B en conjunto.

REFERENCIAS

- Allen, D., Mckee, I., Farage, P., & Baker, N. (1997). Analysis of limitations to CO₂ assimilation on exposure of leaves of two Brassica napus cultivars to UV-B. *Plant Cell Environ*, 20, 633–640.
- Ambasht, N.K & Agrawal, M. (1995). Physiological responses of field grown *Zea mays* L. plants to enhanced UV-B radiation. *Biotronics*, 24, 15-23.
- Andrade, J. L., Rengifo, E., Ricalde, M. F., Simá, J. L., Cervera, J. C., & Vargas, G. (2006). Microambientes de luz, crecimiento y fotosíntesis de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en un agrosistema de Yucatán, México. *Agrociencia*, 40, 687–697.
- Araus, J.L. (1982). EVOLUCIÓN DE DIVERSOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS Y ANATÓMICOS EN *Triticum aestivum* C.V. KOLIBRI Y SU RELACIÓN CON FACTORES ONTOGÉNICOS Y AMBIENTALES. Universidad de Barcelona. (pp 3-40).
- Bako, S. (2006). Effects of Plant Age, Ascorbate and Kinetin Applications on Integrity of the Photosynthetic Pigment Complex in Maize (*Zea mays* L.) Plants Grown under Heat Stress. *Asian Journal Plant Sciences*, 5 (2), 357–362.
- Barbato, R., Bergo, E., Szabó, I., Dalla, F., & Giorgio, M. (2000). Ultraviolet B Exposure of Whole Leaves of Barley Affects Structure and Functional Organization of Photosystem II. *Journal of Biological Chemistry*, 275 (15), 10976–10982. doi:10.1074/jbc.275.15.10976.
- Barsig, M., & Malz, R. (2000). Fine structure, carbohydrates and photosynthetic pigments of sugar maize leaves under UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany* 43: 121–130.
- Basiouny, F., Van, T. K., & Biggs, R. (1978). Some Morphological and Biochemical Characteristics of C3 and C4 Plants Irradiated with UVB. *Physiol. Plant.* 42: 29-32.
- Bastías, E., Díaz M., M., Pacheco C., P., Bustos P, R., & Hurtado C, E. (2011). Caracterización del maíz “Lluteño” (*Zea mays* L. tipo amylacea) proveniente del norte de Chile, tolerante a NaCl y exceso de boro, como una alternativa para la producción de bioenergía. *Idesia (Arica)*, 29(3), 7–16. <https://doi.org/10.4067/S0718->

- Benavides, H.O. (2010). *INFORMACIÓN TÉCNICA SOBRE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA, EL ÍNDICE UV Y SU PRONÓSTICO. IDEAM-METEO. 1, 1–4.*
- Bergmann, D., & Sack, D. (2007). Stomatal Development. *Plant Biol*, 58:163-181.
- Bergo, E., Segalla, A., Giacometti, G. M., Tarantino, D., Soave, C., Andreucci, F., & Barbato, R. (2003). Role of visible light in the recovery of photosystem II structure and function from ultraviolet-B stress in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, 54(388), 1665–1673. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg180>.
- Bernal, M., Verdaguer, D., Badosa, J., Abadía, A., Llusà, J., Peñuelas, J., ... Llorens, L. (2014). *Effects of enhanced UV radiation and water availability on performance, biomass production and photoprotective mechanisms of Laurus nobilis seedlings. Environmental and Experimental Botany. Elsevier B.V.* <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.016>.
- Berry, J. O. (2001). Kranz Anatomy and the C 4 Pathway. In *Encyclopedia of life sciences* (pp. 1–4).
- Bowsher, C., Steer, M., & Tobin, A. (2008). Plant Biochemistry. Recuperado de: <https://books.google.com.co/books?id=GDIWBAAAQBAJ&pg=PR7&dq=plant+biochemistry&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj6wsjb5YHLAhVIXh4KHdbCC9oQ6wEIMzAD#v=onepage&q=plant%20biochemistry&f=false>
- Buchholz, G; Ehmann, B., & Wellmann, E. (1995). Ultraviolet Light Inhibition of Phytochrome-Induced Flavonoid Biosynthesis and DNA Photolyase Formation in Mustard Cotyledons (*Sinapis alba* L.). *Plant Physiol*, 108, 227-234.
- Brutnell, T. P., Wang, L., Swartwood, K., Goldschmidt, A., Jackson, D., Zhu, X. G., ... & Van Eck, J. (2010). *Setaria viridis*: a model for C4 photosynthesis. *The Plant Cell*, 22(8), 2537-2544.
- Bussis, D., Von Groll, U., Fisahn, J., & Altman, T. (2006). Stomatal aperture can compensate altered stomatal density in Arabidopsis thaliana at growth light conditions. *Functional Plant Biology*, 33, 1037–1043.
- Caldwell, M., Robberecht, R., & Flin, S. (1983). Internal Filters: Prospects for UV-Acclimation in Higher Plants. *Physiol Plant*. 58(3): 445-450.

- Campbell, N., & Reece, J. (2007). Photosynthesis. *Biología* (pp. 1–25).
- Carnal, N., Agostino, A., & Hatch MD. (1993). Photosynthesis in Phosphoenolpyruvate carboxykinase-type C4 plants: mechanism and regulation of C4 acid decarboxylation in bundle sheath cells. *Arch Biochem Biophys.* 1; 306(2), 360-7.
- Carrasco-Ríos, L. (2009). Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. *Idesia (Arica)*, 27, 59–76.
- Cartaya, O., & Reynaldo, Inés. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22 (2): 5-14.
- Casal Bejarano, C. (2010). *Caracterización de la radiación ultravioleta en la provincia de Huelva e incidencia en la productividad y el valor biotecnológico de cultivos de interés comercial*. (Tesis Doctoral). Departamento de Química y Ciencia de los Materiales: Universidad de Huelva. Huelva, España. Recuperado de <http://rabida.uhu.es/dspace/bitstream/handle/10272/2713/b15236572.pdf?sequence=1>.
- Casati, P., Drincovich, M., Edwards, G., & Andreo, C. (1999). Malate metabolism by NADP-malic enzyme in plant defense. *Photosynthesis Research* 61:99–105.
- Casierra-posada, F. (2007). Fotoinhibición : Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. Una revisión Photoinhibition : Physiological response of plants to high-irradiance stress. A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(1): 114–123.
- Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J., & Ulrichs, CH. (2011). CRECIMIENTO Y EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DEL FOTOSISTEMA II EN PLANTAS DE FRESA (*Fragaria* sp.) AFECTADAS POR LA CALIDAD DE LA LUZ: IMPLICACIONES AGRONÓMICAS. *Actualidad & Divulgación Científica* 14 (2): 43 – 53.
- Casson, S. A., Franklin, K. A., Gray, J. E., Grierson, C. S., Whitlam, G. C., & Hetherington, A. M. (2009). Phytochrome B and PIF4 Regulate Stomatal Development in Response to Light Quantity. *Current Biology*, 19(3), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.046>
- Castrillo, M. (2006). Fotosíntesis en tres poblaciones altitudinales de la planta andina *Espeletia schultzii* (Compositae). *Biología Tropical*, 54, 1143–1149.

- Chaimsohn, F., Montiel, M., Villalobos, E., & Mora, J. (2008). Anatomía micrográfica del foliolo de la palma neotropical *Bactris gasipaes* (Arecaceae). *Rev. biol. Trop*, 56 (2): 951-959.
- Chollet, R., Vidal, J., & O'Leary, M. (1996). PHOSPHOENOLPYRUVATE CARBOXYLASE: A Ubiquitous, Highly Regulated Enzyme in Plants Annu. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol*, 47, 273–98.
- Çiçek, N., Fedina, I., Cakirlar, H., Velitchkova, M., & Georgieva, K. (2012). The role of short-term high temperature pretreatment on the UV-B tolerance of barley cultivars. *Turk J. Agric. For.*, 36, 153–165.
- Contreras, O. (2004). Relación entre el contenido de caroteno, color y características botánicas del polen corbicular. *Valdivia: Universidad Austral de Chile-Tesis de pregrado*.
- Correia, C. M., Areal, E. L. V., Torres-Pereira, M.S., & Torres-Pereira, J.M.G. (1999). Intraspecific variation in sensitivity to ultraviolet-B radiation in maize grown under field conditions II. *Physiological and Biochemical Aspects* 1, 62.
- Correia, C., Coutinho, J., Bjorn, L., & Torres-Pereira, J. (2000). Ultraviolet-B radiation and nitrogen effects on growth and yield of maize under Mediterranean field conditions. *European Journal of Agronomy*, 12: 117–125.
- Cortés, A., Higuera, J., Reyes, C., Álvares, E., Romero, C., Ribes, J., & Hernández, M. (2011). El índice ultravioleta en el ámbito laboral: un instrumento educativo. *Medicina y Seguridad Del Trabajo*, 57(225): 319–330.
- Cybulski III, W., & Peterjohn, W. (1999). Effects of ambient UV-B radiation on the above-ground biomass of seven temperate-zone plant species. *Plant Ecology* 145: 175–181.
- Daig, Q., Peng, S., Chávez, A., & Vergara, B. (1995). Effects of UV-B Radiation on Stomatal Density and Opening in Rice (*Oryza sativa* L.). *Annals Botany*, 76 (1): 65-70.
- Day, T., Howells, B., & Rice, W. (1994). Ultraviolet absorption and epidermal-transmittance spectra in foliage. *Physiologia plantarum*, 92: 207-218.
- Darje, C.C, De Pascalis, L., Mutschler, B., & Haehnel, W. (2006). Studies of the Ndh complex and photosystem II from mesophyll and bundle sheath chloroplasts of the C4-type plant *Zea mays*. *Journal of Plant Physiology* 163, 800-808.

- Delgado, M., Andrade, J., & Ramírez, C. (2015). Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. *Rev. Mex. de cienc. Forestales*, 6 (28): 74-87.
- Echevarría, C., Monreal, J.A., Feria, A.B., Terencio, E., León, A., Álvarez, R., & García-Mauriño, S. (2010). La fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC): enzima clave de los metabolismos fotosintéticos C4 y CAM. En A. Chueca Sancho, J.L. González Rebollar (Ed.), *C4 y CAM: características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas: Homenaje al doctor Jilio López Gorgé*. Fundación Ramón Areces.
- Edwards, G., & Walker, D. (1983). C3, C4: Mechanisms, and cellular and environmental regulation, of photosynthesis. Recuperado de: <https://books.google.com.co/books?id=EXqeDGfKDhIC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>.
- Estévez, A. A., Cock, J. H., Hernández, A., & Irvine, J. E. (1986). Morfología de la caña de azúcar. In *Congreso del cultivo de la caña de azúcar (1986, Cali, Colombia)*. Ed. por Carlos Buenaventura. Memoria. Cali, Colombia, Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar (pp. 21-303).
- European Fluorocarbons Technical Committee (EFCTC). Fluorocarbons and Sulphur Hexafluoride. Recuperado de: <http://www.fluorocarbons.org/chemical-families/hcfc/hcfc-products-applications>.
- Fagerberg, W.R., & Bornman, J.F. (1997). Ultraviolet-B radiation causes shade-type ultrastructural changes in *Brassica napus*. *Physiol Plant* 101 (4): 833-844.
- Fagerberg, W.R. (2007). Below-ambient levels of UV induce chloroplast structural change and alter starch metabolism. *Protoplasma*. 230: 51–59.
- Farquhar, G.D., & Sharkey Thomas D. (2003). Stomatal conductance and photosynthesis. *Plant Physiol*, 33,317-45.
- Fernández, J., & Sancho, G. (1977). Estudio comparativo de la inhibición que produce el CfViU sobre la fotofosforilación, fotocarboxilación y reacción de hill en cebada. (*Hordeum vulgare* L.). Servicio de Documentación Biblioteca y Publicaciones, Junta de Energía Nuclear, Ciudad Universitaria, Madrid-3, ESPAÑA.
- Fortes, D., Herrera, R.S., González, S., García, M., Romero, A., & Cruz, A.M. (2010). Comportamiento de los pigmentos fotosintéticos, según la edad de rebrote después

- del pastoreo de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115 en la estación lluviosa. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Disponible en: file:///D:/Downloads/Pginas177-180CJAS.pdf
- Frederick, E., & Lubin, D. (1988). The Budget of Biologically Active Ultraviolet Radiation in the Earth-Atmosphere System. *Journal of geophysical research*, 93, 3825-3832.
- Frohnmeier, H., & Staiger, D. (2003). Update on Ultraviolet-B Light Responses Ultraviolet-B Radiation-Mediated Responses in Plants. Balancing Damage and Protection. *Plant Physiology*, 133, 1420–1428. doi:10.1104/pp.103.030049.deeper
- Furbank, R., Agostino, A., & Hatch, D. (1990). C4 Acid Decarboxylation and Photosynthesis in Bundle Sheath Cells of NAD-Malic Enzyme-Type C, Plants: Mechanism and the Role of Malate and Orthophosphate. *Archives of biochemistry and biophysics*, 276 (2), 374-381.
- García, F. O. (2006). Balance de Nutrientes del sistema Trigo-Soja-Maíz: Balance necesario para un buen cultivo de trigo. *INPOFOS Cono Sur*.
- Gil Martínez, F. (1995). "Elementos de Fisiología Vegetal". Edt. Mundi-Prensa.
- Gómez, J., Jiménez, V. (2011). Producción in vitro de antocianinas. Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 16(September), 3–20.
- González, G. (2014). Respuesta de la densidad estomática a características foliares e individuales en tres especies de árboles en Gamboa. *Pensamiento Actual. Universidad de Costa Rica*. 13 (20), 43-49.
- González-Púmariega, M., Tamayo, M. V., & Sánchez-Lamar, Á. (2009). La Radiación Ultravioleta. Su Efecto Dañino Y Consecuencias Para La Salud Humana. *Theoria*, 18(2), 69–80.
- Gotz, T., Windhovel, U., Boger, P., & Sandmann, G. (1999). Protection of Photosynthesis against Ultraviolet-B Radiation by Carotenoids in Transformants of the *Cyanobacterium Synechococcus* PCC79421. *Plant Physiology*, 120: 599–604.
- Grantz, D.A., & Assman, S.M. (1991). Stomatal response to blue light: water use efficiency in sugarcane and soybean. *Plant, Cell & Environment*. 14: 683-690.
- Guéra, A., Calatayud, A., Sabater, B., & Barreno, E. (2004). Involvement of the thylakoidal NADH-plastoquinone-oxidoreductase complex in the early responses to ozone

- exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Journal of experimental botany*, 56(409), 205-218.
- Guruprasad, K., Kadur, G., Bhattacharjee, S., Swapan, B., Kataria, S., Sunita, K., & Mohanty, P. (2007). Growth enhancement of soybean (*Glycine max*) upon exclusion of UV-B and UV-B/A components of solar radiation: characterization of photosynthetic parameters in leaves. *Photosynthesis Research*, 94 (2-3), 299–306. doi:10.1007/s11120-007-9190-0.
- Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, ICPP. (2005) Informe especial IPCC/GETE sobre la protección de la capa de ozono y el sistema climático mundial: Cuestiones relativas a los hidrofluorocarbonos y a los perfluorocarbonos.
- Hatch, M.D. (1987). C4 photosynthesis: A unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Bioenergetics*, 895(2), 81-106.
- Hatch, M.D. (1992). «C4 photosynthesis. An unlikely process full of surprises». *Plant Cell Physiol.*, 33, 333-342.
- Hetherington, A & Woodward, F.L. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*. 424 (21), 901-908.
- Heichel, G.H. (1971). Stomatal movements, frequencies and resistances in two maize varieties differing in photosynthetic capacity. *Journal of Experimental Botany*, 22, 644-649.
- Hofmann, R., Swinny, E., Bloor, S., Markham, K., Ryan, K., Campbell, B., Jordan, B., & Fountain, D. (2000). Responses of Nine *Trifolium repens* L. Populations to Ultraviolet-B Radiation: Differential Flavonol Glycoside Accumulation and Biomass Production. *Annals of Botany*, 86, 527±537.
- Hosseini, S., Carapetian, J., & Khara, J. (2001). The effects of UV radiation on some structural and ultrastructural parameters in pepper (*Capsicum longum* A.DC.) *Turk J Biol*, 35, 69-77.
- Huxman, T.E., & Monson, R.K. (2003). Stomatal responses of C3, C3-C4 and C4 Flaveria species to light and intercellular CO₂ concentration: implications for the evolution of stomatal behaviour. *Plant, Cell and Environment* 26, 313–322.

- Ibdah, M., Krins, A., Seidlitz, H.K., Heller, W., Strack, T.H., & Vogt, T. (2002). Spectral dependence of flavonol and betacyanin accumulation in *Mesembryanthemum crystallinum* under enhanced ultraviolet radiation. *Plant, Cell and Environment*, 25, 1145–1154.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2016). Tiempo y clima. Recuperado de: <http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/seguimiento-tiempo>
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2014). Atlas de Radiación Solar, Ultravioleta y Ozono de Colombia. Recuperado de: <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasRadiacion.html>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio climático (INECC). (2017). Recuperado de: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/437/dick.html>
- Jiayang, L., Ou-Lee, T., Raba, R., Amundson, R.G., & Lasta R.L. (1993). Arabidopsis Flavonoid Mutants Are Hypersensitive to UV-B Irradiation. *The Plant Cell*, 5, 171-179.
- Joshi, P.N., Biswal, B., & Biswal, UC. (1991). EFFECT OF UV-A ON AGING OF WHEAT LEAVES AND ROLE OF PHYTOCHROME. *Environmental and Experimental Botany*, 31 (3), 267-276.
- Joshi, P.N., Ramaswamy, N.K., Iyer, R.K., Nair, J.S., Pradhan, M.K., Gartia, S., & Biswal, UC (2007). Protección parcial del aparato fotosintético del daño inducido por UV-B por radiación UV-A. *Botánica ambiental y experimental*, 59 (2), 166-172.
- Kakani, V. G., Reddy, K. R., Zhao, D., & Mohammed, A. (2003). Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany*, 91(7), 817–26. doi:10.1093/aob/mcg086.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D., & Sailaja, K. (2003). Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agricultural and Forest Meteorology* 120: 191–218.
- Kanai, R., & Edwards, G. (1999) "Part II: Structure-Function of the C4 Syndrome. 3 - The Biochemistry of C4 Photosynthesis". En *C4 Plant Biology*, 49-87.
- Karp, E. (2006). Biología Celular y Molecular. Cuarta Edición. Mc Graw Mill.
- Kataria, S., & Guruprasad, K (2012). Intraspecific variations in growth, yield and photosynthesis of sorghum varieties to ambient UV (280–400 nm) radiation. *Plant Science*, 196: 85–92.

- Kataria, S., & Guruprasad, K.N. (2014). Exclusion of solar UV components improves growth and performance of *Amaranthus tricolor* varieties. *Scientia Horticulture*, 174: 36–45.
- Kataria, S., Guruprasad, K. N., Ahuja, S., & Singh, B. (2013). Enhancement of growth, photosynthetic performance and yield by exclusion of ambient UV components in C3 and C4 plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 127, 140–52.
- Klein, R. (1967). INFLUENCE OF ULTRAVIOLET RADIATION ON AUXIN-CONTROLLED PLANT GROWTH. *Amer. J. Bot.*, 54(7), 904–914.
- Ku S. B., & Edwards, G. E. (1975). Photosynthesis in Mesophyll Protoplasts and Bundle Sheath Cells of Various Types of C4 Plants IV. Enzymes of Respiratory Metabolism and Energy Utilizing Enzymes of Photosynthetic Pathways. *Z. Pflanzenphysiol*, 77, 16-32.
- Lambers, H., Chapin III, S., & Thijs, L. (2008). *Plant Physiological Ecology*. 2° Ed. New York: Springer.
- Lara, V., Drincovich, M., & Andreo, C. (2010). Transiciones metabólicas en la fijación fotosintética del carbono en plantas del género *Portulaca*. In *C4 y CAM: características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas* (pp. 43–55).
- Lasso-Rivas, N. (2015). Efecto de la radiación ultravioleta y la colonización micorrízica en árboles pioneros de la región oriental de América del Norte. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 6 (1), 53-66.
- Lock, O. (1988). Investigación fitoquímica. Métodos para el estudio de los productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú. p. 58-87.
- Lock, O. (1997). *Colorantes Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1era edit.*
- Lower, W. R., Gorsuch, J. W., & Hughes, J. (1997). *Plants for environmental studies*. CRC Press
- Maherali, H., Reid, CD., Polley, H., Johnson, HB., & Jackson, RB. (2002). Stomatal acclimation over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C₃ /C₄ grassland. *Plant Cell & Environment*, 25 (4), 557 - 566.

- Majeran, W., Zybaïlov, B., Ytterberg, A., Dunsmore, J., Sun, Q., & Van, K. (2008). Consequences of C4 Differentiation for Chloroplast Membrane Proteomes in Maize Mesophyll and Bundle Sheath Cells. *Mol Cell Proteomics*, 7(9), 1609–1638.
- Majeran, W., & Van, K. (2009) Cell-type-specific differentiation of chloroplasts in C4 plants. *Trends in Plant Science*, 14 (2), 100-109.
- Mark, U., Saile-Mark, M., & Tevini, M. (1996). Symposium-in-print effects of solar UV-B radiation on growth, flowering and yield of central and southern European maize cultivars (*Zea mays* L.). *Photochemistry and Photobiology*, 64(3): 457-463.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, M & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*, 17(6), 271-278.
- Maroco, J. P., Ku, M. S. B., & Edwards, G. E. (1997). Oxygen sensitivity of C 4 photosynthesis : evidence from gas exchange and chlorophyll fluorescence analyses with different C4 subtypes. *Plan, Cell and Enviroment*, 20, 1525–1533.
- Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12, 1–11. Disponible: <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp>.
- Meléndez-Martínez, A., Vicario, I., & Heredia, F (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57 (2): 109-117.
- Middleton, E., & Teramura, A. (1993). The Role of Flavonol Glycosides and Carotenoids in Protecting Soybean from Ultraviolet-B Damage. *Plant Physiol*, 103: 741-752.
- Miura, K., Hashimoto, T., & Yamaguchi, H. (1974). EFFECT OF GAMMA-IRRADIATION ON CELL ELONGATION AND AUXIN LEVEL IN AENA COLEOPTILES. *Radiation Botany*, 14, 207–215
- Moan, J. (2009). Visible light and UV radiation, in: Brune, A., Hellborg, R., Persson, B.R.R., Pääkkönen, R. (2009). Radiation at home, outdoors and in the workplace. *Scandinavian Science Publisher*, pp. 69-85.
- Monsalvo, K. R. (2009). *RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA*.

- Morales, L., Tegelberg, R., Brosche, M., Keinanen, M., Lindfors, A., & Aphalo, P. (2010). Effects of solar UV-A and UV-B radiation on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves. *Tree Physiol*, 30 (7): 923-934.
- Moran, R (1982). Formulae for Determination of Chlorophyllous Pigments Extracted with N, N-Dimethylformamide. *Plant Physiol*, 69, 1376-1381.
- Newsham, K. K., Greenslade, P. D., & McLeod, A. R. (1999). Effects of elevated ultraviolet radiation on *Quercus robur* and its insect and ectomycorrhizal associates. *Global Change Biology*, 5(8), 881–890. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.1999.00278.x>
- Nieto, G., & Jürgen, H. A. (2005). Características de estomas: indicadores precoces para el rendimiento de la caña de azúcar ((Vol. 23, pp. 5–6).
- Núñez, C. (2009). Distribución Radial de Polifenoles en Troncos de *Eucalyptus grandis*. *Rev. Cienc. Tecnol.* (11): 20:25.
- Orcen, N., Nazarian, G., Barlas, T., & Irget, E. (2013). Variation in stomatal traits based on plant growth parameters in Corn (*Zea mays* L.). *Annals of Biological Research*, 4 (11): 25-29.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2003). *Índice UV Solar Mundial*: Guía práctica. Ginebra (pp. 1–34).
- Organización Internacional del Trabajo (OIT) (1998). Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Fluorocarburos. Recuperado de: <http://www.cso.go.cr/tematicas/seguridad/enciclopedia/104-06.pdf>
- Pagano, E. A., Wolosiuk, R., & Chueca, A. (2010). Evolución del metabolismo fotosintético C4 y los estados de transición C3 y C4. En A. Chueca Sancho, J.L. González Rebollar (Ed.), C4 y CAM: características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas: Homenaje al doctor Jilio López Gorgé .Fundación Ramón Areces.
- Panagopoulos, I., Bornman, J., & Olof Bjiirn, L. (1990). Effects of ultraviolet radiation and visible light on growth, fluorescence induction, ultraweak luminescence and peroxidase activity in sugar beet plants. *J. Photochmn, Photobiol. B: Bid.*, (8) ,73-87.

- Pal, M., Sharma, A., Abrol, Y., & Sengupta, U (1997). Exclusion of UV-B radiation from normal solar spectrum on the growth of mung bean and maize. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 61: 29-34.
- Paliwal, R. (2001). Introducción al maíz y su importancia. En: El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, Roma-Italia, 100 p.
- Pastor de Abram, A., & Zelada, B. (2006). Estudio fitoquímico de *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze (Asteraceae). *Rev. Soc. Quím. Perú*. 72 (1):
- Patil, CH., Mahajan, S., & Katti, S. (2009). Chalcone: A Versatile Molecule. *J. Pharm. Sci. & Res.*, 1(3), 11-22.
- Pfünde, E., Pan, R., & Dilley, R. (1991). Inhibition of violoxanthin depoxidation by ultraviolet-B radiation in isolated chloroplasts and intact leaves. *Plant Physiol.*, 98, 1372–1380.
- Pérez-Urria, E. (2009). Fotosíntesis: Aspectos Básicos. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 1–47.
- Pinto, M., Lizana, C., Pastenes, C., Riquelme, A., & Berti, M. (2000). Efecto de la radiación ultravioleta-B sobre el crecimiento y la fotosíntesis de siete variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Revista Chilena de Historia Natural*, 73: 55-66.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). (2007). *Protocolo de Montreal relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono*. (pp. 1–24).
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). (2012). *GEO 5. Perspectivas del Medio Ambiente Mundial. Medio ambiente para el futuro que queremos*. (pp. 1–552).
- Quaggiotti, S., Trentin, A. R., Dalla Vecchia, F., & Ghisi, R. (2004). Response of maize (*Zea mays* L.) nitrate reductase to UV-B radiation. *Plant Science*, 167(1), 107-116.
- Raghavendra, A.S, & Sage, RF (Eds.). (2010). *Fotosíntesis C4 y mecanismos de concentración de CO₂ relacionados* (Vol. 32). *Springer Science & Business Media*.
- Rai, R., Meena, R., Smita, S., Shukla, A., Rai, S & Pandey-Rai, S. (2011). UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. – An antimalarial plant. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 105: 216–225.


- Rao, V., & Ormrod, D. (1995). Ozone exposure decreases UV-B sensitivity in a UV-B-sensitive flavonoid mutant of *Arabidopsis*. *Photochemistry and photobiology*; 61 (1), 71-78.
- Raya-Pérez, J.C., & Aguirre-Mancilla, G.L (2007). Aparición y evolución de la fotosíntesis C4. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 14(1), 45-50.
- Reddy, A., Kakani, V.G., Zhao, D., Mohammed, A., & Gao, W. (2003). Cotton responses to ultraviolet-B radiation: experimentation and algorithm development. *Agricultural and Forest Meteorology* 120: 249–265.
- Reyes, D., Quiroz, J., Kelso, H., Huerta, M., Avendaño, C., & Lobato, R. (2015). Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla*. *Agron. Mesoam.* 26(2):237-246.
- Ripley, B., Gilbert, M., Ibrahim, D., & Osborne, C. (2007). Drought constraints on C4 photosynthesis: stomatal and., metabolic limitations in C3 and C4 subspecies of *Alloteropsis semialata*. *Journal of Experimental Botany*, 58 (6), 1351–1363.
- Saenz, J.E. (2012) La fotosíntesis, concepciones, ideas alternativas y analogías. Unidad didáctica dirigida a estudiantes de los ciclos 3 y 4 de educación básica del colegio José María Carbonell. Trabajo de grado. Universidad Nacional. PDF.
- Sage, R & Monson, R. (1999). C4 PLANT BIOLOGY. *Recuperado de* : <https://books.google.com.co/books?id=H7Wv9ZImW-QC&printsec=frontcover&dq=plants+C4&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiE5OzV5OPLAhVGqh4KHx-eDuoQ6AEILzAB#v=onepage&q=plants%20C4&f=false>.
- Sahoo, A., Sarkar, S., Singh, R., Kafatos, M., & Summers, M. (2005). Declining trend of total ozone column over the northern parts of India. *Int. J. Remote Sens.*, 26, 3433–3440.
- Salama, H., Al Watban, A., & Al-Fughom, A (2011). Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 79–86.
- Sánchez, P., Larqué, A., Nava, T., & Trejo, C. (2000). Respuesta de plantas de maíz y frijol al enriquecimiento de dióxido de carbono. *Agrociencia* 34: 311-320.
- San Miguel-Chávez, R., Hernández-Sequera, V., Rosas-Calleja, D., Trinidad-Santos, A., & Larqué-Saavedra, A. (1999). EFECTO DEL POTASIO SOBRE LA

- CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA Y CONTENIDO DE CLOROFILA EN AMARANTO (*Amaranthus hypochondriacus* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5 (1), 19-22.
- Santos, A.; Almeida, J.M.; Santos, I.; & Salema, R (1998). Biochemical and ultrastructural changes in pollen of *Zea mays* L. grown under enhanced UV-B radiation. *Ann of Bot* 82: 641-645.
- Sivasakthivel, T., & Reddy, K. K. S. K. (2011). Ozone Layer Depletion and Its Effects : A Review. *International Journal of Environmental Science and Development*, 2(1), 1–8.
- Sociedad Americana de Cáncer. (2015). Prevención y detección temprana del cáncer de piel. Recuperado de <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003183-pdf.pdf>
- Solarte, M. E., Moreno, L., & Melgarejo, L. M. (2010). Vi. fotosíntesis y pigmentos vegetales. In L. M. Melgarejo (Ed.), (1st ed., pp. 107–122). Universidad Nacional de Colombia.
- Solomon, S., Ivy, D., Kinnison, D., Mills, M., Neely III, R., & Schmidt, A. (2016). Emergence of healing in the Antarctic ozone layer. *Science*, 1-13.
- Solorio, B., Martínez, Á., López, G., López, C., & Arteaga, T. (2016). La biomasa de los sistemas productivos de maíz nativo (*Zea mays*) como alternativa a la captura de carbono. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 32(3), 361–367. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.03.10>
- Stapleton, A & Walbot, V. (1994). Flavonoids Can Protect Maize DNA from the Induction of Ultraviolet Radiation Damage. *Plant Physiol.* 105: 881 -889.
- Stata, M., Sage, T., Rennie, T., Khoshraves, R., Sultmanis, S., Khaikin, Y., Ludwi, M., & Sage, R. (2014). Mesophyll cells of C4 plants have fewer chloroplasts than those of closely related C3 plants. *Plant, Cell and Environment*. 1-14.
- Streit, N.M., Canterle, L., Weber do Canto, M., & Hecktheuer, L.H. (2005). Como clorofilas. *Ciência Rural*, 35 (3), 748-755. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000300043>
- Suárez, J., & Fernández, T. (1984). INFLUENCIA DE LA APERTURA ESTOMAS: SOBRE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DE LAS HOJAS DE PLANTAS DE JUDÍAS. *Junta de Energía Nuclear*. Pp 4-45.

- Sumanta, N., Haque, C., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Res. J. Chem. Sci.* 4(9), 63-69.
- Svobodova, A., Walterova, D., & Vostalova, J. (2006). ULTRAVIOLET LIGHT INDUCED ALTERATION TO THE SKIN. *Biomed Pap MeFac*, 150(1), 25–38.
- Stapleton, A., & Walbot, V. (2007). Flavonoids Can Protect Maize DNA from the Induction of Ultraviolet Radiation Damage. *Plant Physiol*, 105: 881 -889.
- Stavro, X. (2007). Implementación del Protocolo de Montreal en Colombia. *Producción + Limpia*. 2, 1. 1-15.
- Tardon, A. A. (2011). *Efecto de la radiación UV-C sobre la calidad en brotes de alfalfa (Medicago sativa L.) conservados en atmósferas modificadas*. Universidad de Chile.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Teramura, A & Sullivan, J. (1994). Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants. *Photosynthesis Research* 39:463-473.
- Toledo, M., Camero, R., Durán, J., Villamizar, D., & Contreras, L. (2012). Diseño y aplicación de una práctica de fotosíntesis para estudiantes de biología celular del IPC-UPEL. *Revista de Investigación* 76 (36): 75-96.
- Tsormpatsidis, E., Henbest, R. G., Davis, F. J., Battey, N., Hadley, P., & Wagstaffe, A. (2008). UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in lollo rosso lettuce "revolution" grown under polyethylene films. *Environmental and experimental Botany*, 232-239.
- Turcsányi, E., & Vass, I. (2000). Inhibition of Photosynthetic Electron Transport by UV-A Radiation Targets the Photosystem II Complex. *Photochemistry and Photobiology*, 72(4), 513–520.
- Turcsányi, E., & Vass, I. (2002). Effect of UV-A radiation on photosynthetic electron transport. *Acta Biológica*, 46(3-4):171-173.
- UNEP (2011). HFCs: A Critical Link in Protecting Climate and the Ozone Layer. United Nations Environment Programme (UNEP), 36pp.
- Val, J., Heras, L., & Monge, E. (1985). Nuevas Ecuaciones para la determinación de pigmentos fotosintéticos en acetona. *An Aula Dei*, 17, 231-238.

- Vass, I., Turcsányi, E., Touloupakis, E., Ghanotakis, D., & Petrouleas, V. (2002). The mechanism of UV-A radiation-induced inhibition of photosystem II electron transport studied by EPR and chlorophyll fluorescence. *Biochemistry*, 41(32), 10200–10208. <https://doi.org/10.1021/bi020272+>
- Verdaguer, D., Jansen, M., Llorens, L., Morales, L., & Neugart, S. (2016). UV-A radiation effects on higher plants: exploring the known unknown, *Plant Science*.
- Vičánková, A., & Kutík, J (2005). Chloroplast ultrastructural development in vascular bundle sheath cells of two different maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Plant Soil Environ.*, 51 (11), 491–495.
- Vicente-Vicente, L., Prieto, M., & Morales, Al. (2013). Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Rev. Toxicol.* 30: 171-181.
- Wang, W., Gorsuch, J.W., & Hughes, J.S. (1997). Plants for environmental studies. Recuperado de https://books.google.com.co/books?id=bCTdiHTWjYQC&printsec=frontcover&dq=plant+for+environmental+studies&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjs8un7tazTAhUEr1QKHCr_CVQQQ6AEIIDA#v=onepage&q=plant%20for%20environmental%20studies&f=false.
- Wang, C., Guo, L., Li, Y., & Wang, Z. (2012). Systematic comparison of C3 and C4 plants based on metabolic network analysis. In *BMC systems biology* (Vol. 6, No. 2, p. S9). BioMed Central.
- Westhoff, P., Offennann-Steinhard, K., Hofer, M., Eskins, K., Oswald, A., & Streube, M. (1991). Differential accumulation of plastid transcripts encoding photosystem II components in the mesophyll and bundle sheath cells of monocotyledonous NADP malic enzyme-type C4 plants *Planta*, 184,377-388.
- Wong, S.C., Cowan, I.R., & Farquhar, G.D (1978). Conductancia foliar en relación con la asimilación en *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng: Influencia de la irradiación y la presión parcial del dióxido de carbono. *Plant Physiology* , 62 (4), 670-674.
- Yin, L.N., & Wang, S.W (2012). Modulated increased UV-B radiation affects crop growth and grain yield and quality of maize in the field. *Photosynthetica* 50 (4): 595-601.

- Zaid, A., Hughes, H.G., Porceddu, E., & Nicholas, F. (2004). Glosario de biotecnología para la agricultura y la alimentación. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación.
- Zea, J., León, G., & Eslava, J. (2000). El ozono estratosférico y la capa de ozono. *Meteorol. Colomb*, 2, 47-55.
- Zhang, X., Ervin, E.H., & Schmidt, R.E (2005). The role of Leaf pigment and Antioxidant Levels in UV-B Resistance of Dark- and Light-green Kentucky Bluegrass Cultivars. *J.AMER.SOC.SCI*, 130 (6):831-841.
- Zuk, K., Upadhyaya, M.K., & Golaszewski, J. (2003). The effect of UV-B radiation on plant growth and development. *PLANT SOIL ENVIRON*, 49, 2003 (3): 135–140.
- Zvezdanovic, J., & Markovic, D. (2008). Bleaching of chlorophylls by UV irradiation in vitro: the effects on chlorophyll organization in acetone and n-hexane. *J. Serb. Chem. Soc.* 73 (3) 271–282.
- Zvezdanovic, J., Cvetic, T., Veljovic, S & Markovic, D. (2009). Chlorophyll bleaching by UV-irradiation in vitro and in situ: Absorption and fluorescence studies. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 25–32.

 Universidad del Tolima	PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 1 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 03
		Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017

Los suscritos:

ADRIANA LIZETH TORRES LONDOÑO	con C.C N°	1110517319
LUIS FERNANDO RODRÍGUEZ HERRERA	con C.C N°	93374971
_____	con C.C N°	_____
_____	con C.C N°	_____
_____	con C.C N°	_____

Manifiesto (an) la voluntad de:

Autorizar

☒

No Autorizar

☐

Motivo:

La consulta en físico y la virtualización de **mi OBRA**, con el fin de incluirlo en el repositorio institucional de la Universidad del Tolima. Esta autorización se hace sin ánimo de lucro, con fines académicos y no implica una cesión de derechos patrimoniales de autor.


Manifestamos que se trata de una OBRA original y como de la autoría de LA OBRA y en relación a la misma, declara que la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA, se encuentra, en todo caso, libre de todo tipo de responsabilidad, sea civil, administrativa o penal (incluido el reclamo por plagio).

Por su parte la UNIVERSIDAD DEL TOLIMA se compromete a imponer las medidas necesarias que garanticen la conservación y custodia de la obra tanto en espacios físico como virtual, ajustándose para dicho fin a las normas fijadas en el Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad, en la Ley 23 de 1982 y demás normas concordantes.

La publicación de:

Trabajo de grado	<input checked="" type="checkbox"/>	Artículo	<input type="checkbox"/>	Proyecto de Investigación	<input type="checkbox"/>
Libro	<input type="checkbox"/>	Parte de libro	<input type="checkbox"/>	Documento de conferencia	<input type="checkbox"/>
Patente	<input type="checkbox"/>	Informe técnico	<input type="checkbox"/>		
Otro: (fotografía, mapa, radiografía, película, video, entre otros)					<input type="checkbox"/>

Producto de la actividad académica/científica/cultural en la Universidad del Tolima, para que, con fines académicos e investigativos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad del

 Universidad del Tolima	PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 2 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 03
		Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017

Tolima. Con todo, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la Ley 23 de 1982. En concordancia suscribo este documento en el momento mismo que hago entrega del trabajo final a la Biblioteca Rafael Parga Cortes de la Universidad del Tolima.

De conformidad con lo establecido en la Ley 23 de 1982 en los artículos 30 “**...Derechos Morales. El autor tendrá sobre su obra un derecho perpetuo, inalienable e irrenunciable**” y 37 “**...Es lícita la reproducción por cualquier medio, de una obra literaria o científica, ordenada u obtenida por el interesado en un solo ejemplar para su uso privado y sin fines de lucro**”. El artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “**los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores**” y en su artículo 61 de la Constitución Política de Colombia.

- Identificación del documento:

Título completo: **EFFECTO DE LA RADIACIÓN UV-A Y UV-B EN PLANTAS C4, ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA.**

- Trabajo de grado presentado para optar al título de:

BIÓLOGO


- Proyecto de Investigación correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Informe Técnico correspondiente al Programa (No diligenciar si es opción de grado “Trabajo de Grado”):

- Artículo publicado en revista:

- Capítulo publicado en libro:

- Conferencia a la que se presentó:



 Universidad del Tolima	PROCEDIMIENTO DE FORMACIÓN DE USUARIOS AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	Página 3 de 3
		Código: GB-P04-F03
		Versión: 03
		Fecha Aprobación: 15 de Febrero de 2017

Quienes a continuación autentican con su firma la autorización para la digitalización e inclusión en el repositorio digital de la Universidad del Tolima, el:

Día: **04** Mes: **SEPTIEMBRE** Año: **2018**

Autores:

Firma

Nombre:	ADRIANA LIZETH TORRES LONDOÑO		C.C.	1110517319
Nombre:	LUIS FERNANDO RODRÍGUEZ HERRERA		C.C.	93374971
Nombre:			C.C.	
Nombre:			C.C.	

El autor y/o autores certifican que conocen las derivadas jurídicas que se generan en aplicación de los principios del derecho de autor.